

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problems Mailbox.**

MOUSE GENE CORRESPONDING TO CAUSATIVE GENE OF HUMAN WERNER'S SYNDROME AND PROTEIN FOR WHICH THE GENE CODES

Patent Number: JP10146188

Publication date: 1998-06-02

Inventor(s): IMAMURA TSUKASA; SUGAWARA MINORU;
FURUICHI YASUHIRO

Applicant(s):: EIJIIN KENKYUSHO:KK

Requested

Patent: ■ JP10146188

Application

Number: JP19960304721 19961115

Priority Number

(s):

IPC C12N15/00 ; A01K67/027 ; C07K14/47 ; C07K16/18 ;

Classification: C12N5/10 ; C12P21/02 ; C12P21/08 ; C12Q1/68

EC

Classification:

Equivalents:

Abstract

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject new gene corresponding to a causative gene of human Werner's syndrome (WRN), consisting of a mouse WRN gene coding for a polypeptide containing a specific amino acid sequence and useful as a reagent for detecting a WRN gene, etc.

SOLUTION: A new mouse WRN gene coding for a polypeptide substantially containing an amino acid sequence expressed by the formula. The gene corresponds to a causative gene of human Werner's syndrome, is useful for a study to elucidate the relation to the occurrence of human WRN and to clarify a mechanism controlling the homeostasis of a living body, and is useful as a diagnostic probe for tests or prophylaxis of diseases related to the occurrence of WRN, etc. This gene is obtained by amplifying a DNA fraction having a partial sequence high in homology to the human WRN gene, and a DNA fraction whose sequence is unknown and a 3'-terminal-having DNA fraction whose sequence is unknown, both of these DNA fractions existing at the upstream side from that DNA fraction, and further fusing these DNA fractions.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **10146188 A**

(43) Date of publication of application: **02 . 06 . 98**

(51) Int. Cl.

C12N 15/00
A01K 67/027
C07K 14/47
C07K 16/18
C12N 5/10
C12P 21/02
C12P 21/08
C12Q 1/68

(21) Application number: **08304721**

(22) Date of filing: **15 . 11 . 96**

(71) Applicant: **EIJIIN KENKYUSHO:KK**

(72) Inventor: **IMAMURA TSUKASA**
SUGAWARA MINORU
FURUICHI YASUHIRO

(54) **MOUSE GENE CORRESPONDING TO
CAUSATIVE GENE OF HUMAN WERNER'S
SYNDROME AND PROTEIN FOR WHICH THE
GENE CODES**

fraction whose sequence is unknown, both of these DNA
fractions existing at the upstream side from that DNA
fraction, and further fusing these DNA fractions.

COPYRIGHT: (C)1998,JPO

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject new gene corresponding to a causative gene of human Werner's syndrome (WRN), consisting of a mouse WRN gene coding for a polypeptide containing a specific amino acid sequence and useful as a reagent for detecting a WRN gene, etc.

SOLUTION: A new mouse WRN gene coding for a polypeptide substantially containing an amino acid sequence expressed by the formula. The gene corresponds to a causative gene of human Werner's syndrome, is useful for a study to elucidate the relation to the occurrence of human WRN and to clarify a mechanism controlling the homeostasis of a living body, and is useful as a diagnostic probe for tests or prophylaxis of diseases related to the occurrence of WRN, etc. This gene is obtained by amplifying a DNA fraction having a partial sequence high in homology to the human WRN gene, and a DNA fraction whose sequence is unknown and a 3'-terminal-having DNA

```
Met Glu Thr Thr Ser Leu Gln Arg Lys Phe Pro Glu Trp Met Ser
 1           5           10           15
Met Gln Ser Gln Arg Cys Ala Thr Glu Glu Lys Ala Cys Val Glu Lys
Ser Val Leu Glu Asp Asn Leu Pro Phe Leu Glu Phe Pro Gly Ser Ile
          35           40           45
          |
          |
          |
Thr Lys Ala Ser Ser Ser Glu Ser Lys Arg Lys Leu Pro Glu Trp Phe
1360           1365           1370           1375
Ala Lys Gly Asn Val Pro Ser Ala Asp Thr Gly Ser Ser Ser Ser Met
          1380           1385           1390
Ala Lys Thr Lys Lys Lys Gly Leu Phe Ser
          1395           1400
```

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-146188

(43) 公開日 平成10年(1998) 6月2日

(51) Int.Cl.⁶

識別記号

F I

C 1 2 N 15/00

Z N A

C 1 2 N 15/00

Z N A

A 0 1 K 67/027

A 0 1 K 67/027

C 0 7 K 14/47

C 0 7 K 14/47

16/18

16/18

C 1 2 N 5/10

C 1 2 P 21/02

C

審査請求 未請求 請求項の数15 O L (全 30 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号

特願平8-304721

(22) 出願日

平成8年(1996)11月15日

(71) 出願人 596013888

株式会社エイジーン研究所

神奈川県鎌倉市梶原200番地

(72) 発明者 今村 幸

神奈川県鎌倉市梶原200番地 株式会社エ

イジーン研究所内

(72) 発明者 菅原 稔

神奈川県鎌倉市梶原200番地 株式会社エ

イジーン研究所内

(72) 発明者 古市 泰宏

神奈川県鎌倉市梶原200番地 株式会社エ

イジーン研究所内

(74) 代理人 弁理士 平木 祐輔 (外1名)

(54) 【発明の名称】 ヒトのウェルナー症候群の原因遺伝子に対応するマウス遺伝子及び該遺伝子がコードするタンパク質

(57) 【要約】

【課題】 マウス WRN 遺伝子の提供。

【解決手段】 配列番号2で表されるアミノ酸配列を実質的に含むポリペプチドをコードするマウス WRN 遺伝子、該遺伝子の少なくとも一部とハイブリダイズするオリゴヌクレオチドプローブ、該遺伝子を含む組換え体 DNA、該組換え体 DNA によって形質転換された形質転換体、配列番号2で表されるアミノ酸配列を実質的に含むポリペプチド、該ポリペプチドの製造方法、該ポリペプチドと特異的に反応するモノクローナル抗体及びポリクローナル抗体、該モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ、該遺伝子を用いて作られるノックアウトマウス及びトランスジェニック動物、並びに該遺伝子を含む WRN 遺伝子検出用試薬。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 配列番号 2 で表されるアミノ酸配列を実質的に含むポリペプチドをコードするマウス WRN 遺伝子。

【請求項 2】 マウス WRN 遺伝子が、配列番号 3 で表される塩基配列を実質的に含むものである請求項 1 記載の遺伝子。

【請求項 3】 配列番号 1 で表される塩基配列を実質的に含むマウス WRN 遺伝子。

【請求項 4】 請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の遺伝子の少なくとも一部とハイブリダイズするオリゴヌクレオチドプローブ。

【請求項 5】 請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の遺伝子を含む組換え体 DNA。

【請求項 6】 請求項 5 記載の組換え体 DNA によって形質転換された形質転換体。

【請求項 7】 請求項 6 記載の形質転換体を培養し、得られる培養物からマウス WRN 遺伝子がコードするポリペプチドを採取することを特徴とする該ポリペプチドの製造方法。

【請求項 8】 配列番号 2 で表されるアミノ酸配列を実質的に含む、マウス WRN 遺伝子がコードするポリペプチド。

【請求項 9】 請求項 8 記載のポリペプチドと特異的に反応するモノクローナル抗体。

【請求項 10】 請求項 8 記載のポリペプチドと特異的に反応するポリクローナル抗体。

【請求項 11】 請求項 8 記載のポリペプチドで免疫された抗体産生細胞とミエロマ細胞とを融合させることにより得られる、請求項 9 記載のモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ。

【請求項 12】 請求項 4 記載のオリゴヌクレオチドプローブを含む、マウス WRN 遺伝子の検出用試薬。

【請求項 13】 請求項 8 記載のポリペプチド、及び請求項 9 記載のモノクローナル抗体又は請求項 10 記載のポリクローナル抗体を含む、ウェルナー症候群の検出・診断用キット。

【請求項 14】 請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の遺伝子の機能が失われるように処理されたノックアウトマウス。

【請求項 15】 請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の遺伝子の発現レベルを上昇又は下降するように修飾された遺伝子が導入されたトランスジェニック動物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、ヒトのウェルナー症候群の原因遺伝子に対応する新規なマウス遺伝子、該遺伝子がコードするタンパク質、該タンパク質の製造方法、並びに該タンパク質及び該遺伝子の用途に関する。

【0002】

【従来の技術】ウェルナー症候群とは、老化と密接に関連する複雑な病状を呈する常染色体劣性遺伝病である。ウェルナー症候群は、若年期に、一般的な老人に見られる特徴、例えば白髪化、ハゲ、糖尿病、心疾患、ガン、皮膚の退縮、皮膚の強皮症様変化、若年性白内障、早老、性腺機能低下などを示すことが知られている。

【0003】ところで、ウェルナー症候群患者由来の皮膚細胞（繊維芽細胞）を培養した場合に、その分裂寿命（継代数、細胞分裂できる回数など）は、同年齢の健康人からの繊維芽細胞の分裂寿命に比べて著しく短くなっていることが実験的に知られている（Richard G. A. Faragher et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 90, pp12030-12034 (1993)）。これらの事実は、ウェルナー症候群を惹起するウェルナー遺伝子が、本来はヒトの老化過程をコントロールしているものの一つであり、この遺伝子に何らかの変異が起こっていることを示唆している。

【0004】従って、ウェルナー遺伝子をクローニングすることにより、該遺伝子を遺伝子治療や遺伝子診断等に利用することが期待される。従来より、ウェルナー遺伝子は、ヒト由来のものが知られている（Science, 272, 258-262, 1996）。しかし、老化はヒトに限られるものではないため、ヒト以外の動物においてもウェルナー遺伝子に相当する遺伝子が存在することが考えられる。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、ヒトのウェルナー症候群の原因遺伝子に対応する新規なマウス遺伝子及び該遺伝子がコードするタンパク質、該タンパク質の製造方法、並びに該遺伝子及び該タンパク質の用途を提供することを目的とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者は、上記課題に基づいて鋭意研究を行った結果、マウス精巣又は脾臓由来の RNA からマウスウェルナー遺伝子（マウス WRN 遺伝子）をクローニングすることに成功し、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は、配列番号 2 で表されるアミノ酸配列を実質的に含むポリペプチドをコードするマウス WRN 遺伝子である。かかる遺伝子としては、例えば配列番号 1 又は 3 で表される塩基配列を実質的に含むものが挙げられる。

【0007】ここで、「実質的に」とは、本発明のポリペプチドがウェルナー症候群をもたらす機能を有する限り、また、本発明のマウス WRN 遺伝子が本発明のポリペプチドを発現させる機能を有する限り、当該ポリペプチドに含まれるアミノ酸配列、又は当該遺伝子の塩基配列に欠失、置換、付加、挿入等の変異が生じてもよいことを意味する。

【0008】従って、例えば配列番号 2 で表されるアミノ酸配列の第 1 番目のメチオニン（Met）が欠失しているものなども、このアミノ酸配列の変化によるタンパク質に含まれる。また、本発明のポリペプチドに含まれるア

ミノ酸をコードする塩基配列のほか、縮重コドンにおいてのみ異なる同一のポリペプチドをコードする縮重異性体も本発明の遺伝子に含まれる。

【0009】さらに、本発明は、前記マウスWRN遺伝子の少なくとも一部とハイブリダイズするオリゴヌクレオチドプローブである。さらに、本発明は、前記マウスWRN遺伝子を含む組換え体DNAである。さらに、本発明は、前記組換え体DNAによって形質転換された形質転換体である。

【0010】さらに、本発明は、前記形質転換体を培養し、得られる培養物からマウスWRN遺伝子がコードするポリペプチドを採取することを特徴とする該ポリペプチドの製造方法である。さらに、本発明は、配列番号2で表されるアミノ酸配列を実質的に含む、マウスWRN遺伝子がコードするポリペプチドである。

【0011】さらに、本発明は、前記ポリペプチドと特異的に反応するモノクローナル抗体又はポリクローナル抗体である。さらに、本発明は、前記ポリペプチドで免疫された抗体産生細胞とミエロマ細胞とを融合させることにより得られる、前記モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマである。

【0012】さらに、本発明は、前記オリゴヌクレオチドプローブを含む、マウスWRN遺伝子の検出用試薬である。さらに、本発明は、前記ポリペプチド、及び前記モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体を含むウェルナー症候群の検出・診断用キットである。

【0013】さらに、本発明は、前記マウスWRN遺伝子の機能が失われるように処理されたノックアウトマウス、又はマウスWRN遺伝子の発現レベルを上昇又は下降するように修飾された遺伝子が導入されたトランスジェニック動物である。以下、本発明を詳細に説明する。

【0014】

【発明の実施の形態】本発明により明らかになったヒトのウェルナー症の原因遺伝子に対応するマウスの遺伝子（マウスWRN遺伝子）は、配列番号2で表されるアミノ酸配列を実質的に含むものをコードするものである。本発明のポリペプチドは、図2に示すように、アミノ酸レベルでは、ヒトとマウスとの間で良く保存された7つのヘリカーゼ・モチーフを含む。また、図3に示すFISHの結果から明白なように、本発明のマウスWRN遺伝子は、マウス染色体第8番の8A4に存在することが確認された。さらに、本発明者らは、サザンブロット解析により、マウスWRN遺伝子はマウスゲノム上でシングルコピーとして存在している可能性を明らかにした（図4A）。なお、マウスWRN遺伝子に相当する他種生物由来の遺伝子は、Zoo Blotによる解析結果より、マウスWRN遺伝子の塩基配列とホモロジーを有していたことから（図4B）、公知技術によりクローニングすることが可能である。

【0015】マウスWRN遺伝子が各種臓器に於てどのよ

うに発現しているかを調べる多組織(Multi-Tissue)ノーザンブロット解析結果（図5）から、マウスWRN遺伝子は、脾臓及び精巣において強く発現し、肺、肝臓、腎臓において中程度に発現し、脳、心臓及び骨格筋においては、僅かしか発現していないことがわかった。

【0016】以上の結果を総合すると、マウスWRN遺伝子は、種を越えて比較的良く保存され（図4B）、かつ、マウスのさまざまな組織において高い発現が認められたことから（図5）、生体の基本的な恒常性の維持に関わる遺伝子の一つであることが強く示唆される。本発明の遺伝子は、ヒトのウェルナー症候群発症との関連を解明するための研究に有用であると共に、この遺伝子の発現制御の解明は、生体の恒常性維持を司るメカニズムを解明するうえでも有用であり、また、生命の基本的な恒常性を維持するための新規医薬品の創製にも有用である。

【0017】本発明のマウスWRN遺伝子は、例えば以下のようにして同定し取得することができる。

1. マウスWRN遺伝子のクローニング

マウスWRN遺伝子は、Long-distance (LD) PCR法及び Suppression PCR法の2つの原理に基づいて RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends; Frohman, M.A. et al., Methods Enzymol. Vol. 218, pp340-358 (1993)) を行うことにより得ることができる。すなわち、マウスWRN遺伝子は、ヒトのWRN遺伝子とホモロジーの高い部分配列を有するDNA断片、並びに該DNA断片よりも上流に位置するDNA断片（5'末端を有するDNA断片を含む）であって配列が未知のDNA断片及び3'末端を有するDNA断片であって配列が未知のDNA断片を増幅し、さらに、これらのDNA断片の融合により、完全長のcDNAとして得ることができる。

【0018】本発明では、完全長のcDNAのクローニングは、例えば市販のキット (Marathon™ cDNA Amplification Kit; CLONETECH 社) を用いて行うことができる。図1に、cDNAのクローニングの概要を示す。

【0019】まず、マウス由来のヒトWRN遺伝子とホモロジーの高い部分配列を有するDNA断片（部分cDNA断片）を増幅する。この部分cDNA断片は、配列は未知であるがマウス精巣又は脾臓由来のpoly(A)+RNA から得ることができる。すなわち、該RNAから逆転写酵素を用いてcDNAを合成し、RT-PCRにより部分cDNA断片を調製する（図1(1)、枠囲み部分）。次に、得られた部分cDNA断片の配列を決定した後、該部分cDNA断片の配列を基に4種類の遺伝子特異的プライマー (GSP) を設計する（5' GSP1、5' GSP2、3' GSP1及び3' GSP2）。GSPは、当該部分cDNA配列よりも5'側及び3'側の領域に存在するDNA断片の配列が未知であるものを増幅するために必要とされるプライマーである。GSPの配列は、当該部分cDNA配列から任意に選択することができ、その配列は化学合成により得ることができ

る。本発明では、当該部分 cDNA よりも 5' 側の未知配列を増幅する際に使用する GSP を 5' GSP1 及び 5' GSP2 とし、当該部分 cDNA よりも 3' 側の未知配列を増幅する際に使用する GSP を 3' GSP1 及び 3' GSP2 とする (図 1 (1) の枠囲み部分)。

【0020】次に、部分 cDNA よりも 5' 側及び 3' 側に存在する DNA 断片を増幅する。鋳型としては、市販のマウス精巣、脾臓等の由来の cDNA (例えば、CLONETECH 社の cDNA Ready™) を用いることができる。この鋳型となる DNA 断片の配列は未知であるが、各 DNA 断片の末端にはアダプター配列が付加されている。そこで、アダプター配列にハイブリダイズするプライマー (アダプタープライマー (AP) という) 及び前記 GSP を

プライマーとして用いて、アダプターが連結された、配列が未知の cDNA 断片の増幅反応 (LD PCR) を 2 回行う。

【0021】例えば、図 1 (2) の反応では、まず AP1 及び 5' GSP1 を用いて PCR を行い、得られた断片を鋳型として、次は前記 AP1 及び 5' GSP1 の位置よりも内側の領域にハイブリダイズすることができるプライマー (AP2 及び 5' GSP2) を用いて PCR を行う (nested PCR)。図 1 (3) 及び

(4) の反応についても同様である。但し、図 1 (3) の反応に用いる 5' GSP3 については、図 1 (2) の反応で得られた反応産物の配列を決定した後、当該配列を基に設計される。

【0022】本発明では、部分 cDNA 断片 (配列番号 17 で表される) の位置を基準として、これよりも上流に位置する DNA 断片を 5'-RACE-1 産物及び 5'-RACE-2 産物 (それぞれ、図 1 (2)、(3) の反応産物である) とし、下流に位置する DNA 断片を 3'-RACE 産物 (図 1

(4) の反応産物) とする。

【0023】なお、AP はアダプターの突出末端と同じ配列を持つため、アダプターにはアニーリングせず、一回目の増幅では、遺伝子特異的プライマー (GSP) からのみ伸長する (これを Suppression PCR という)。

【0024】次に、前記のようにして得られた 5'-RACE-1 産物、5'-RACE-2 産物、部分 cDNA 断片及び 3'-RACE 産物のアセンブリを行う。すなわち、各断片間でオーバーラップしている部分をアニーリングさせる。上記各産物のアセンブリは、キット (cDNA Ready™; CLONETECH 社) の説明書に従って行うことができる。その結果、5'-及び 3'-両端を含む完全長の cDNA が得られる (図 1 (5))。

【0025】得られた cDNA の塩基配列の決定は、Hattori ら [Electrophoresis 13, 560-565 (1992)] により記載された PCR をベースにした方法により行う。すなわち、Perkin Elmer 社製の蛍光ダイデオキシターミネーターを含有する PRISM Sequenceing Kit を使って反応を行い、Applied Biosystem 社製のオートシーケンサー (モデル ABI 373) で塩基配列を読み取り、付属の Mac

intosh コンピューターによりデータの解析を行う。

【0026】なお、前記 5'-RACE-1 産物、5'-RACE-2 産物、部分 cDNA 断片及び 3'-RACE 産物についても同様にして塩基配列を決定し、それぞれマウス WRN 遺伝子の部分断片として得ることができる。

【0027】塩基配列が一旦決定されると、その後は、化学合成によって、又は決定された当該塩基配列から合成したプライマーを用いた PCR によって、あるいは該塩基配列を有する DNA 断片をプローブとしてハイブリダイズさせることによって、所望の遺伝子を得ることができる。

【0028】配列番号 18 に 5'-RACE-1 産物、配列番号 19 に 5'-RACE-2 産物、配列番号 17 に ヒト WRN 遺伝子とホモロジーの高い部分 cDNA 断片、配列番号 20 に 3'-RACE 産物、並びに配列番号 1 及び 3 に WRN 遺伝子の塩基配列を例示するが、本質的に WRN 遺伝子活性を担持する配列であればこの配列に限定されるものではなく、欠失、挿入、置換、付加などによってその塩基配列に変異を導入することが可能である。なお、変異の導入は、公知の突然変異導入法 (例えば宝酒造社の TAKARA LA PCR in vitro Mutagenesis kit を用いた方法) 等により行われる。

【0029】II. BAC DNA を用いた Dual-color FISH 解析

本発明では、マウス WRN 遺伝子の染色体上の存在位置を確認することを目的として、前記クローニングにより得られた cDNA を含む BAC DNA を用いた Dual-color FISH 解析が行われる。

【0030】FISH (Fluorescence in situ hybridization) とは、細胞核に蛍光標識をした DNA プローブをハイブリダイズさせ、細胞核上でその DNA の位置を目に見える形で検出する方法である。標本としては、分裂間期又は染色体がはっきり見える分裂中期の細胞が用いられる。

【0031】分裂中期の細胞は次の手順で得ることができる。マウス胚性幹細胞 (Embryonic Stem 細胞; 以下 ES 細胞という) をフィトヘムアグルチニン (PHA) で刺激して細胞分裂を促進し、コルセミドを用いて分裂中期で分裂を停止させる。細胞は酢酸/メタノール溶液で固定した後、スライドガラスの上に広げる。スライドガラス上の標本は、ホルムアミド及び SSC [Standard Saline Citrate; 0.15M NaCl, 0.015M Sodium Citrate (pH 7.0)] により変性させる。次に、ジゴキシゲニン又はビオチンで標識した DNA プローブを反応させると、この標識 DNA は標本とハイブリダイズする。次に、ロダミン標識した抗ジゴキシゲニン抗体又は FITC-標識アビジンなどで処理して蛍光標識すると、DNA プローブがハイブリダイズした位置を、ロダミンについては赤色、FITC については緑色のシグナルとして見ることができる。

【0032】III. cDNA クローンの解析

(1) サザンブロットによる解析

サザンブロットとは、制限酵素などによって切断した D

NA断片の中から目的とする遺伝子を検出することを目的とする手法である。

【0033】まず、DNA断片をアガロース・ゲルの電気泳動でサイズの違いに従い分離する。次に、アルカリ及び塩によってDNAを変性させ、ニトロセルロース・フィルターに移す。このフィルターを³²Pで標識したプローブとハイブリダイズさせ、フィルターをオートラジオグラフィにかけると、その結果、ハイブリダイズしたDNA断片が検出される。この方法を用いることで、遺伝子数(コピー数)、ファミリーの存在等を知ることができる。プローブとしては、前記完全長cDNAの少なくとも一部を含む断片(オリゴヌクレオチド)が用いられる。詳細については、実施例3に記す。

【0034】(2) ノーザンブロットによる解析
ノーザンブロットとは、RNAの混合物の中から特定のRNAを検出するための手法であり、また、目的のRNAのサイズ及び量を検出することを目的として使用される手法である。

【0035】細胞又は組織からのRNAの抽出は、例えば高濃度グアニジンチオシアネートを用いて行い、フェノール/クロロホルムで除蛋白したのち、アルコール沈殿でRNAを精製する。アガロースゲル電気泳動により、RNAをサイズの違いで分画し、アルカリ及び塩により変性させる。次に、RNAをニトロセルロース・フィルターに移し、³²PでラベルしたcDNAプローブとハイブリダイズさせる。そして、オートラジオグラフィで感光させ、プローブとハイブリダイズした目的のRNAを検出する。

【0036】この方法により、プローブに用いたcDNAの配列に対応するmRNAが検出され、かつ、目的の遺伝子の完全長のサイズ及び相対的な発現量を知ることができる。プローブとしては、例えばMarathon cDNA Kitを用いて得られた完全長cDNAの一部である3'-UT (278 bp)が用いられる。詳細については、実施例4に記す。

【0037】IV. 形質転換体の作製

本発明の形質転換体は、本発明の組み換え体DNAを、該組み換え体DNAを作製する際に用いた発現ベクターに適合する宿主中に導入することにより得られる。精製された遺伝子を、適当なベクターDNAの制限酵素部位又はマルチクローニングサイトに挿入して組換え体DNAを作製し、当該組換え体DNAを用いて、宿主細胞を形質転換する。

【0038】DNA断片を挿入するためのベクターDNAは、宿主細胞で複製可能なものであれば特に限定されず、例えば、プラスミドDNA、ファージDNA等が挙げられる。プラスミドDNAとしては、例えばプラスミド pUC118(宝酒造社製)、pUC119(宝酒造社製)、pBluescript SK+(Stratagene社製)、pGEM-T(Promega社製)等が挙げられ、ファージDNAとしては、例えばM13mp18、M13mp19等が挙げられる。

【0039】宿主としては、目的とする遺伝子を発現できるものであれば特に限定されず、真核細胞及び原核細胞のいずれをも用いることができる。例えば、大腸菌

(*Escherichia coli*)、バチルス・ズブチリス(*Bacillus subtilis*)等の細菌、サッカロミセス・セレビシエ(*Saccharomyces cerevisiae*)等の酵母、COS細胞、CHO細胞等の動物細胞などが挙げられる。

【0040】大腸菌等の細菌を宿主として用いる場合は、本発明の組換え体DNAが該宿主中で自立複製可能であると同時に、プロモーター、本発明のDNA、転写終結配列を含む構成であることが好ましい。例えば、大腸菌としてはXL1-Blue(Stratagene社製)、JM109(宝酒造社製)等が挙げられ、発現ベクターとしては、例えばpBTrp2等が挙げられる。プロモーターとしては、大腸菌等の宿主中で発現できるものであればいずれを用いてもよい。例えば、trpプロモーター、lacプロモーター、P_Lプロモーター、P_Rプロモーターなどの大腸菌やファージ等に由来するプロモーターが用いられる。

【0041】本発明では、形質転換は、例えば Hanahanの方法[Techniques for Transformation of *E. coli* In DNA Cloning, vol. 1, Glover, D.M. (ed.) pp109-136, IRL Press (1985)]により行うことができる。

【0042】酵母を宿主として用いる場合は、発現ベクターとして、例えばYEpl3、YCp50等が挙げられる。プロモーターとしては、例えばgal 1プロモーター、gal 10プロモーター等が挙げられる。酵母への組換え体DNAの導入方法としては、例えばエレクトロポレーション法(Methods. Enzymol., 194, 182-187(1990))、スフェロプラスト法(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 1929-1933(1978))、酢酸リチウム法(J. Bacteriol., 153, 163-168(1983))等が挙げられる。

【0043】動物細胞を宿主として用いる場合は、発現ベクターとして例えばpcDNA1、pcDNA1/Amp(インビトロジェン社)等が用いられる。動物細胞への組換え体DNAの導入方法としては、例えば、エレクトロポレーション法、リン酸カルシウム法等が挙げられる。

【0044】ベクターDNAとしてプラスミドDNAを用いる場合、例えばEcoRI DNA断片を挿入する際、プラスミドDNAを制限酵素EcoRI(NEB社製)を用いて消化しておく。次いで、DNA断片と切断されたベクターDNAとを混合し、これに、例えばT4 DNAリガーゼ(宝酒造社製)を作用させて組換え体DNAを得る。

【0045】上記形質転換株のスクリーニングは、目的遺伝子の一部を含むDNA断片をプローブとしたコロニーハイブリダイゼーション、あるいは、目的の遺伝子の塩基配列に基づいた5'プライマー(FP)を合成し、次いで、相補鎖DNAの塩基配列に基づいた3'プライマー(RP)を合成し、これらのプライマーを用いたPCR法により、目的とする遺伝子を含むコロニーを選択することができる。

【0046】V. マウスWRN 遺伝子がコードするポリペプチドの生産

前記のようにして得られた組換え体DNAを保有する形質転換体を培養すれば、本発明の遺伝子がコードするポリペプチドを生産することができる。培養方法は、通常の固体培養法でもよいが、液体培養法を採用することが好ましい。

【0047】形質転換体を培養する培地としては、例えば酵母エキス、ペプトン、肉エキス等から選ばれる1種以上の窒素源に、リン酸水素二カリウム、硫酸マグネシウム、塩化第二鉄等の無機塩類の1種以上を添加し、更に必要により糖質原料、抗生物質、ビタミン等を適宜添加したものが用いられる。また、必要により培地にIPTG等を添加して、遺伝子の発現を誘導してもよい。培養開始時の培地のpHは7.2〜7.4に調節し、培養は通常36〜38℃、好ましくは37℃前後で14〜20時間、通気攪拌培養、振盪培養等により行う。

【0048】培養終了後、培養物より本発明のポリペプチドを採取するには、通常のタンパク質精製手段を用いることができる。すなわち、リゾチーム等の酵素を用いた溶菌処理、超音波破碎処理、磨砕処理等により菌体を破壊し、本発明の遺伝子がコードするポリペプチドを菌体外に排出させる。次いで、濾過又は遠心分離等を用いて不溶物を除去し、粗ポリペプチド溶液を得る。

【0049】上記粗ポリペプチド溶液から、該ポリペプチドをさらに精製するには、通常のタンパク質精製法を使用することができる。例えば、硫酸塩析法、イオン交換クロマトグラフィー、疎水クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、電気泳動法等を、単独又は適宜組み合わせることにより行う。

【0050】VI. モノクローナル抗体の作製
本発明のマウスWRN遺伝子がコードするポリペプチドに特異的なモノクローナル抗体は、以下のようにして得ることができる。

【0051】(1) 抗原の調製

前記の方法(IV)により得られたポリペプチドを緩衝液に溶解し、次いでアジュバントを添加する。アジュバントとしては、市販のフロイント完全アジュバント、フロイントの不完全アジュバント等が挙げられ、これらの何れのものでもよい。

【0052】(2) 免疫及び抗体産生細胞の採取
上記のようにして得られた免疫原を哺乳動物、例えばラット、マウスなどに投与する。抗原の免疫量は1回に動物1匹当たり、10〜500 μ g用いる。免疫部位は、主として静脈内、皮下、腹腔内に注入する。また、免疫の間隔は特に限定されず、数日から数週間間隔で、好ましくは1〜3週間間隔で、2〜5回、好ましくは3〜4回免疫する。

【0053】最終の免疫日から2〜7日後、好ましくは

4〜5日後に、抗体産生細胞を採取する。抗体産生細胞としては、脾臓細胞、リンパ節細胞、末梢血細胞等が挙げられるが、脾臓細胞又は局所リンパ節細胞が好ましい。

【0054】(3) 細胞融合

抗体産生細胞と融合させるミエローマ細胞として、マウスなどの動物の一般に入手可能な株化細胞を使用する。使用する細胞株としては、薬剤選択性を有し、未融合の状態では選択培地(HAT培地：ヒポキサンチン、アミノプテリン、チミンを含む)で生存できず、抗体産生細胞と融合した状態でのみ生存できる性質を有するものが好ましい。ミエローマ細胞の具体例としては、P3U-1(大日本製薬社製)、P3x63Ag8.653などのマウスミエローマ細胞株が挙げられる。

【0055】次に、上記ミエローマ細胞と抗体産生細胞とを細胞融合させる。細胞融合は、血清を含まないDME M、RPMI-1640 培地などの動物細胞培養用培地中で、10⁶細胞/mlの抗体産生細胞と2 \times 10⁵細胞/mlのミエローマ細胞とを等容量混合し、融合促進剤存在のもとで融合反応を行う。

【0056】細胞融合を促進させるためには、平均分子量1,500ダルトンのポリエチレングリコール等を使用することができる。また、電気刺激(例えばエレクトロポレーション)を利用した市販の細胞融合装置を用いて抗体産生細胞とミエローマ細胞とを融合させることもできる。

【0057】(4) ハイブリドーマの選択及びクローニング

細胞融合処理後の細胞から目的とするハイブリドーマを選別する。その方法として、細胞懸濁液を例えばウシ胎児血清含有RPMI-1640培地などで適当に希釈後、マイクロタイタープレート上に5〜10細胞/ウェル程度まき、各ウェルに選択培地を加え、以後適当に選択培地を交換して培養を行う。その結果、選択培地で培養開始後、約14日前後から生育してくる細胞をハイブリドーマとして得ることができる。

【0058】増殖してきたハイブリドーマの培養上清中に、目的とする抗体が存在するか否かをスクリーニングする。ハイブリドーマのスクリーニングは、通常の方法に従えばよく、特に限定されない。例えば、ハイブリドーマとして生育したウェルに含まれる培養上清の一部を採取し、酵素免疫測定法(EIA; enzyme immuno assay)、RIA(radio immuno assay)等によって行うことができる。融合細胞のクローニングは、限界希釈法等により行い、最終的にモノクローナル抗体産生細胞であるハイブリドーマを樹立する。

【0059】(5) モノクローナル抗体の採取

樹立したハイブリドーマからモノクローナル抗体を採取する方法として、通常の細胞培養法又は腹水形成法等が採用できる。細胞培養法においては、ハイブリドーマを

10%ウシ胎児血清含有 RPMI-1640培地、MEM 培地又は無血清培地等の動物細胞培養培地中で、通常の培養条件（例えば37℃、5%CO₂濃度）で10～14日間培養し、その培養上清から抗体を取得することができる。

【0060】腹水形成法の場合は、ミエローマ細胞由来の哺乳動物と同種系動物の腹腔内にハイブリドーマを約5×10⁶個投与し、ハイブリドーマを大量に増殖させる。そして、1～2週間後に腹水または血清を採集する。

【0061】上記抗体の採取方法において、抗体の精製が必要とされる場合は、硫酸塩析法、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ゲルクロマトグラフィーなどの公知の方法を適宜に選択して、又はこれらを組み合わせることにより精製することができる。

【0062】VII. ポリクローナル抗体の作製

(1) 抗原の調製

前記の方法(IV)により得られたポリペプチドを緩衝液に溶解し、次いでアジュバントを添加する。アジュバントとしては市販のフロイント完全アジュバント、フロイント不完全アジュバントを用いる。

【0063】(2) 免疫

動物としては、通常、ウサギ、モルモット、ヤギ、ヒツジなどを用いる。ウサギを例にとると、ウサギの足蹠に、通常100μgから500μgのポリペプチドをフロイント完全アジュバントとともに皮下注射する。二週間後に同量の抗原をフロイント不完全アジュバントと混合して筋肉内注射をする。さらに二週間後に筋肉内注射を繰り返し、最終免疫の一週間後に耳より部分採血してEIA法等により抗体価を測定する。抗体価が目的の値に達していれば全採血し、抗体価が低ければ筋肉内注射を繰り返し、抗体価が目的の値に達するまで免疫を繰り返す。血清から硫酸分画による抗体の精製は、モノクローナル抗体の項(V)で述べた方法を採用できる。

【0064】VIII. マウスWRN 遺伝子及びその遺伝子がコードするポリペプチドの検出用試薬

マウスWRN 遺伝子は、種を越えて比較的良く保存され（図4B）、かつ、マウスのさまざまな組織において高い発現が認められたことから（図5）、生体の基本的な恒常性の維持に関わる未知の構成成分をコードしている遺伝子の一つであることが強く示唆され、この遺伝子の発現制御の解明は、生体の恒常性維持を司るメカニズムを解明するうえで有用であり、また、生体の基本的な恒常性を維持するための新規医薬品の創製にも有用であると共に、ウェルナー症候群病発症との関連を解明するための研究にも有用である。

【0065】本発明の遺伝子をウェルナー症候群の検出用試薬として使用する場合は、クローニングされたマウスWRN 遺伝子の少なくとも一部分を含むオリゴヌクレオチドをプローブとしてハイブリダイゼーションを行い、

サザン又はノーザンブロット法により検出が行われる。なお、オリゴヌクレオチドプローブとしては、DNA プローブ、RNA プローブ等が挙げられる。

【0066】また、本発明の遺伝子をコードするポリペプチドに対するポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体をウェルナー症候群の検出用試薬として使用する場合は、EIA、RIA又はウエスタンブロット解析により検出が行われる。

【0067】IX. 遺伝子の発現レベルを上昇又は下降するように修飾された遺伝子が導入されたトランスジェニック動物

本発明においては、遺伝子の発現を正常に調節しているいくつかの重要な部位（エンハンサー、プロモーター、イントロン等）の一部に欠失、置換、挿入等の変異を起こさせることにより、本来の遺伝子の発現レベルと比較して人工的に上昇又は下降するように修飾することができる。

【0068】上記変異の導入は、公知のいずれの手法により行うことができ、例えば、点突然変異導入キット

（例えば宝酒造社のTAKARA LA PCR in vitro Mutagenesis kit）等を用いることができる。トランスジェニック動物としては、例えばトランスジェニックマウス、トランスジェニックラット等が挙げられる。

【0069】前記変異を導入した遺伝子を保有するベクターとしては、WRN 遺伝子を過剰発現させるようなベクター、逆にその発現を抑制するようなアンチセンスのベクターの二つが考えられる。いずれの場合にも、遺伝子の選択のためのポジティブ選別用の薬剤（例えば、ネオマイシンなど）耐性遺伝子を連結させておく。

【0070】細胞への遺伝子の挿入は、受精卵に直接DNAを注入する方法も使用し得るが、ES細胞は、培養が可能でしかもこの細胞からマウス等を発生させることができるという利点を有しているため、各種ES細胞を用いる方法がより効率的で好ましい。ES細胞としては、例えばTT2細胞が挙げられる（相沢慎一、ジーンターゲットイング、1995年、羊土社）。

【0071】WRN 遺伝子を含む上記ベクターDNAをエレクトロポレーションによりES細胞へ導入し、ネオマイシンでポジティブ選別し、目的の変異ES細胞を得る。上記ES細胞を、胚胎盤胞又は8細胞期胚に毛細管等を用いて注入する。その後、胚胎盤胞又は8細胞期胚を直接仮親の卵管に移植するか、一日培養して胚盤胞まで発生したものを仮親の子宮に移植する。仮親から生まれた子のうちキメラ動物を選ぶ。キメラの寄与率が高い動物は、生殖系列の可能性が高いが、キメラ動物を正常動物と交配することにより、生殖系列のキメラ動物であることの確認が可能である。生殖系列のキメラ動物と正常動物との交配により、ヘテロ接合体動物が得られ、ヘテロ接合体同士の交配によりホモ接合体動物を得ることができる。

【0072】X. ノックアウトマウス

本発明のノックアウトマウスは、マウスWRN 遺伝子の機能が失われるように処理されたものである。その処理方法について説明する。マウスWRN 遺伝子を含むゲノムDNA をPCR 又はゲノムライブラリーより得、そのいずれかのエクソンの中に neo耐性遺伝子を挿入したベクターを構築する。この操作により、このエクソンの機能は破壊される。これと同時に、このベクターの中にネガティブ選別用のチミジンキナーゼ (tk) 遺伝子又はジフテリア (DT) 毒素遺伝子を繋げておく。エレクトロポレーションにより該ベクターDNA をES細胞に導入する。次に、この細胞をポジティブ選別用のネオマイシン及びネガティブ選別用の核酸類似体FIAU (fluoriodoadenosyluracil)、又はジフテリア毒素の存在下で培養する。この操作により非相同組換えを起こしたジフテリア毒素感受性細胞、及び組換えを全く起こさないG418感受性細胞が除去され、相同組換えを起こした細胞のみが残る。この細胞では、破壊されたエクソンを含む遺伝子がノックアウトされる。

【0073】得られた細胞をマウスの胚胎盤胞又は8細胞期胚に注入する。その後は、トランスジェニック動物の作製と同様の手法により、ノックアウトマウスを作製することができる。

【0074】

【実施例】以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明はこれら実施例にその技術的範囲を限定するものではない。

【0075】【実施例1】 Marathon™ cDNA Amplification Kit を用いたマウスWRN cDNAのクローニング

(1) RT-PCRによるマウスWRN 遺伝子の部分cDNA断片の調製

(i) 逆転写によるcDNAの調製及び増幅

【0076】Poly(A)+RNA (CLONETECH 社) 約1 µg、ジチオスレイトール、dNTP (dATP, dCTP, dGTP及びdTTP)、逆転写酵素用バッファー及び逆転写酵素 Super Script IIを含む反応液を、42℃で30分反応させ、その後 RNase処理をしてcDNAを調製した。この cDNAをテンプレートとし、AG1897 (配列番号8) 及びAG1911 (配列番号9) をプライマーとして、Taq DNA ポリメラーゼを用い、RT-PCR反応を行った。

【0077】RT-PCRは、1.5 mM MgCl₂、20 mM dNTP、1x Perkin-Elmer Cetus buffer、各プライマー0.3 mM、及び0.25 unit Taq ポリメラーゼを含む10 µl の混合反応液中で行った。まず、上記反応液を94℃で5分反応させ、次に、94℃で30秒、55℃で5秒及び72℃で1分の反応を1サイクルとしてこれを35サイクル行なった。得られた反応液をさらに72℃で5分反応させてDNA溶液を得た。

【0078】(ii) 塩基配列決定のためのRT-PCR産物の調製

上記DNA溶液、T4 DNAリガーゼ (宝酒造社製)、バッ

ァー (宝酒造社製)、及びpGEM-Tベクター (Promega 社製)を含む溶液を15℃で3時間反応させて、RT-PCR産物の断片をpGEM-Tベクターに組み込んだ。このベクターで大腸菌JM109をトランスフォームさせ、この大腸菌を、X-gal、IPTG及びアンピシリン (最終濃度50 µg/ml) を含むLBバクテアプレートに播いた

白色の大腸菌コロニーについて、アンピシリン (最終濃度50 µg/ml) を含むLB培地で、37℃で16時間以上振盪培養し、Kurabo社製のロボット (PI-100 Σ) を用いてプラスミド DNAを回収・精製した。

【0079】RNase 処理によりRNAを分解した後、20% ポリエチレングリコール/2.5M NaCl溶液で小分子化合物を除き、エタノール沈殿を行い、DNAシーケンシング用の試料とした。通常、7 µlを1.5 %アガロースゲルにより解析し、特異的な増幅が認められた場合、5 µlを直接塩基配列の解析に用いた。

【0080】(iii) 塩基配列の決定

目的とするDNA 断片をpGEM-Tベクター (Promega 社製) に挿入し、大腸菌で増殖させた後、プラスミドをロボット (Kurabo 社製 PI-100 Σ) を用いたアルカリ法により精製した。得られた精製プラスミドを RNaseで処理した後、ポリエチレングリコール/食塩水の溶液で処理して小分子を除き、DNA を精製した。

【0081】精製されたDNA を鋳型DNA として、非標識プライマー、4種類の蛍光標識ヌクレオチド-5'-トリフォスフェイト、及びTaq ポリメラーゼを加えた反応系でPCRを行った。

【0082】反応混合液は以下の通りである。

Thermal Ready Reaction Mix	8 µl
30 鋳型DNA	2.0 µl
プライマー	2pmol/µl
dH ₂ O	8.5 µl

【0083】PCR は、96℃で10秒 (変性)、55℃で5秒 (アニーリング) 及び60℃で4分 (伸長) の反応を1サイクルとしてこれを25サイクル行なった。この反応では、無作為に蛍光色素の入ったDNA 断片が合成され、それをシーケンサーで解析することで、最終的には連続した塩基配列を決定することができる。

【0084】得られたcDNAクローンは、下記のプライマーを用いて、Applied Biosystem 社製の自動DNAシーケンサー (model ABI 373) により行なった。

M13F側	配列番号4
M13R側	配列番号5
SP6 側	配列番号6
T7 側	配列番号7

その結果、配列番号17で表される1.4 kbのcDNAが得られた。

【0085】次に、RT-PCR法により得られたマウスWRNの部分cDNA断片 (配列番号17) の配列を基に、各プライマー、すなわち該cDNAの相補鎖上に5' GSP1 (配列番号1

0) 及び5' GSP2 (配列番号11)、そして該cDNA鎖上に3' GSP1 (配列番号13) 及び3' GSP2 (配列番号14) を作製した。

【0086】(2) 部分cDNA断片の5'-側及び、3'-側に存在する未知配列のcDNA断片の増幅
マウス精巣及び脾臓由来のcDNA Ready™ (CLONETECH 社) を起源にして、(i) 5'-RACE-1及び(ii) 5'-RACE-2、並びに(iii) 3'-RACE を行った。以下、各RACEについて順に説明する。

*

表1. PCR反応溶液

組 成		
5 μ l	マウス精巣cDNA Ready™	
1 μ l	AP1 (配列番号15) (10 μ M)	
1 μ l	5' GSP1 (配列番号10) (10 μ M)	
43 μ l	マスターミックス	
	36 μ l	dH ₂ O
	5 μ l	10×KlenTaq PCR buffer
	1 μ l	10mM dNTP
	1 μ l	50×KlenTaq DNA polymerase
50 μ l (全量)		

【0089】

【表2】

表2. PCRサイクルプログラム

1. (94℃で2分) ×1サイクル
2. (94℃で30秒, 68℃で4分) ×30サイクル
3. 4℃で静置

【0090】(i-b) 2nd LD PCR

※行った (表3及び4)。

1st PCR 産物を 1xTE (pH8.0) で50倍希釈したものの 5 μ

【0091】

lをテンプレートにして、nestedプライマー (AP2 (配列番号16) 及び GSP2 (配列番号11)) を用いてPCR 反応を※

【表3】

表3. PCR反応溶液

組 成		
5 μ l	1st PCR産物 (50倍希釈)	
1 μ l	AP2 (配列番号16) (10 μ M)	
1 μ l	5' GSP2 (配列番号11) (10 μ M)	
43 μ l	マスターミックス (組成は表1と同様)	
50 μ l (全量)		

【0092】

【表4】

表4. PCRサイクルプログラム

1. (94℃で2分) ×1サイクル
2. (94℃で30秒, 68℃で4分) ×20サイクル
3. 4℃で静置

【0093】2nd PCR 産物 10 μ lを 1.2%アガロースゲル電気泳動後、EtBr染色して、マウス WRN cDNA の5' 端部分である約1.8kbpの断片 (配列番号18) の増幅を確認した。

【0094】(ii) 5'-RACE-2産物の増幅

(ii-a) 1st LD PCR

★

★マウス精巣及び脾臓由来のcDNA Ready™をテンプレートにして、AP1 (配列番号15) 及び5' GSP2 (配列番号11) を用いて、以下の組成及びサイクルプログラム (表5及び6) によりPCR 反応を行った。

【0095】

【表5】

表5. PCR反応溶液

組 成	
5 μ l	マウス脾臓cDNA Ready™
1 μ l	AP1 (配列番号15) (10 μ M)
1 μ l	5' GSP2 (配列番号11) (10 μ M)
43 μ l	マスターミックス (組成は表1と同様)
50 μ l (全量)	

【0096】

【表6】

表6. PCRサイクルプログラム

1.	(94℃で2分) × 1 サイクル
2.	(94℃で30秒, 68℃で4分) × 30 サイクル
3.	4℃で静置

【0097】(ii-b) 2nd LD PCR

* は、前記5' -RACE-1 産物の配列を基に設計し合成したも

1st PCR 産物を、1xTE(pH8.0) で50倍希釈したものの 5 μ lをテンプレートにして、nestedプライマー(AP2 (配列番号16) 及び5' GSP3 (配列番号12) を用いてPCR 反応を行った (表7 及び8) 。なお、5' GSP3 (配列番号12) *

【0098】

【表7】

表7. PCR反応溶液

組 成	
5 μ l	1st PCR産物 (50倍希釈)
1 μ l	AP2 (配列番号16) (10 μ M)
1 μ l	5' GSP3 (配列番号12) (10 μ M)
43 μ l	マスターミックス (組成は表1と同様)
50 μ l (全量)	

【0099】

【表8】

表8. PCRサイクルプログラム

1.	(94℃で2分) × 1 サイクル
2.	(94℃で30秒, 68℃で4分) × 20 サイクル
3.	4℃で静置

【0100】2nd PCR 産物 10 μ lを 1.2%アガロースゲル電気泳動後、EtBr染色して、マウスWRN cDNAの5' 端部分である約1.2kbpの断片 (配列番号19) の増幅を確認した。

※5' -RACE 同様、マウス精巣及び脾臓由来のcDNA Ready™をテンプレートにして、AP1(配列番号15) 及び3' GSP1 (配列番号13) を用いてPCR 反応を行った (表9 及び10) 。

【0101】(iii) 3' -RACE産物の増幅

【0102】

(iii-a) 1st LD PCR

※ 【表9】

表9. PCR反応溶液

組 成	
5 μ l	マウス精巣cDNA Ready™
1 μ l	AP1 (配列番号15) (10 μ M)
1 μ l	3' GSP1 (配列番号13) (10 μ M)
43 μ l	マスターミックス (組成は表1と同様)
50 μ l (全量)	

【0103】

【表10】

表10. PCRサイクルプログラム

1.	(94℃で2分) × 1 サイクル
2.	(94℃で30秒, 68℃で4分) × 30 サイクル
3.	4℃で静置

【0104】(iii-b) 2nd LD PCR

列番号16) 及び3' GSP2(配列番号14))を用いてPCR反応を行った。

1st PCR 産物を、1x TE(pH8.0) で50倍希釈したものの 5 μ lをテンプレートにして、nestedプライマー (AP2(配

50 【0105】なお、プライマーとして3' GSP2を使う以外

は、表3及び4に記載の条件と同様である。2nd PCR 産物 15 μ l を 1.2%アガロースゲル電気泳動にかけた後、EtBr染色した結果、約1.3kbpのマウスWRN cDNA 3'-端部分断片（配列番号20）の特異的増幅を確認した。

【0106】(3) マウスWRN の全長cDNA

前記(2)により得られた3種類の断片（5'-RACE-1 産物、5'-RACE-2 産物及び3'-RACE産物）をpGEM-Tベクター（Promega 社製）にサブクローニングし、各断片の配列決定を行った。そして、前記(1)で得られた部分cDNA断片と前記3種類の断片とを結合させることにより、配列番号1で表される全長約5.1kbpの完全長のマウスWRN cDNAを得ることができた。

【0107】また、配列番号1で表される塩基配列がコードする本発明のポリペプチドのアミノ酸配列を配列番号2に、該アミノ酸配列をコードするDNAの塩基配列を配列番号3に示す。

【0108】〔実施例2〕BAC DNAの精製及びFISH

純度の高いBAC DNA は、塩化セシウム(CsCl)密度勾配遠心法で分離精製し、FISHによる解析に用いた。

【0109】(1) BAC クローンの培養法

BAC クローンからの DNAの回収・精製は、Smoller ら〔Chromosoma, 100, 487-494(1991)〕によって報告された方法に変更を加えて行った。すなわち、単一 BACファージクローンを含む大腸菌コロニーを最終濃度12.5 μ g/mlのクロラムフェニコールを含む1LのLB培養液中へ懸濁し、37℃で一晩振盪培養した。

【0110】(2) CsCl密度勾配遠心法によるBAC DNA の精製

BAC DNAは、上記(1)に記載した方法により得られた菌体から、通常のアルカリ-SDS法〔Birnbom and Doly, Nucleic Acids Res. 7, 1513-1523 (1979)〕により調製し、CsCl密度勾配遠心法により精製した。

【0111】冷却遠心分離（3,500rpm×15分）により回収した菌体に、50mlの50mM Sucrose-10mM EDTA-25mM Tris-HCl(pH 8.0)と、50 mg/mlのリゾチーム溶液を1.5 ml 加え、穏やかに室温で5分インキュベートした。引き続き、100ml の 0.2M NaOH-1%SDS溶液を加え、穏やかに氷上で5分インキュベートした。さらに、75mlの3M KAc-11.5%氷酢酸を加え、穏やかに氷上で5分インキュベートした。

【0112】冷却遠心分離(4,000 rpm×15分)により上清を回収し、そこに最終濃度50 μ g/mlとなるようにRNase 溶液を加え、37℃で1時間インキュベート後、同量の2-プロパノールを加え-20℃で1時間放置した。冷却遠心分離（6,000rpm×15分）後、デカンテーションにより上清を除去し、P1/PAC DNAを含む沈殿を70%EtOHで洗浄後、完全に風乾させた。6mlの 10mM Tris-HCl-1mM EDTA (pH 8.0)を加えて沈殿を溶解させ、そこに6g のCsClを加えて十分に溶解させ、さらに10mg/ml エチジウムブロミドを100 μ l 加え、-20℃で20分放置した。冷却遠

心分離(6,000rpm×10分)後上清を回収し、22℃で 100,000rpm × 6時間以上の超高速遠心により、BAC DNA をバクテリアゲノムと分離した。UV照射下で BAC DNAを含むバンドを回収後、イソamilアルコールでエチジウムブロミドを除き、また、2度の透析によりCsClを除き、BAC DNAを精製した。透析バッファーとして10mM Tris-HCl-1.25mM EDTA (pH 8.0)を用いた。このBAC DNA をFISHによる解析に用いた。

【0113】(3) FISH

10 マウスES細胞をPHAで刺激して細胞分裂を促進し、コレミドを用いて分裂中期で分裂を停止させた。細胞は酢酸/メタノール溶液で固定した後に、スライドガラスの上に広げた。スライドガラス上の標本はホルムアミドとSSC [Standard Saline Citrate; 0.15M NaCl, 0.015M Sodium Citrate (pH 7.0)]により変性させた。次に、ジゴキシゲニンで標識したマウスWRN 遺伝子を含む BAC DNA (BAC-#11315 DNA) プローブを反応させて標本とハイブリダイズさせた。そして、FITC-標識した抗ジゴキシゲニン抗体で処理して標本を蛍光標識した。

20 【0114】その結果、図3に示すように、FITCのシグナルは、第8染色体のテロメアを特異的に染める標準 DNAプローブの近傍の短腕部分に存在した。従って、マウス WRN遺伝子を含むBAC-#11315 DNAは、第8染色体、8A4 領域に存在することが分かった。

【0115】〔実施例3〕マウスWRN 遺伝子のサザンロットによる解析

標識された核酸プローブと相補的な塩基配列を持つマウスWRN 遺伝子DNAの領域を同定するために、次のようにサザンハイブリダイゼーションを行った。

30 【0116】(1) マウス肝臓及びヒト胎盤由来のゲノム DNA

制限酵素 (BamHI, BglIII, EcoRI, HindIII及び PstI)で消化したマウス肝臓及びヒト胎盤由来のゲノム DNA 10 μ gを、0.8%アガロースゲル電気泳動により分離した。ゲルを 0.5N NaOH-1.5M NaCl溶液150ml に浸し、30分間ゆっくり振盪し、アルカリ変性させた。ゲルを脱イオン水で軽く洗い、0.5M Tris-HCl(pH 7.5), 1.5M NaCl 溶液 150mlに浸し、30分間ゆっくりと振盪し、中和反応させた。

40 【0117】一方、ゲルと同じ大きさに切ったニトロセルロース膜 (Amersham社製) を蒸留水にて湿らせた後、2×SSC(0.3M NaCl, 0.03M クエン酸ナトリウム(pH 7.0)) に浸した。トレイに20×SSC 溶液を 200ml入れ、スポンジを浸し、次いで適当な大きさの濾紙 (Whatmann 3 MM) を 2×SSC に浸した後、スポンジの上に載せた。

【0118】次に、この濾紙上に前記のように処理したアガロースゲルを載せ、そしてその上にニトロセルロース膜を載せ、さらに同じ大きさの濾紙、ペーパータオルの束及び重しを載せ、一晩トランスファーさせた。

50 【0119】トランスファー終了後、紫外線照射 (波長

260 nm、120 mJ/cm²)によりゲノムDNAをニトロセルロース膜へ固定し、完全長のマウスWRN cDNA断片を、後述の方法に従い放射性ラベルしてマウスWRN 遺伝子の検出プローブとし、最終的にKodack社製のX線フィルムによるオートラジオグラフィにより検出した(図4)。

【0120】なお、マウスWRN プレハイブリダイゼーションバッファーには、5×SSPE、10×Denhardt's溶液、2% SDS及び100 µg/ml変性サケ精子DNA断片を含むものを用いた。

【0121】結果を図4に示す。図4Aは、ヒト胎盤(レーン1~5)及びマウス肝臓(レーン6~10)由来のゲノムDNAを所定の制限酵素で消化し、アガロース電気泳動で分離後、ニトロセルロース膜にプロットし、これを、³²P 標識の完全長マウスWRN cDNAをプローブにハイブリダイズし、検出した結果である。

【0122】図4A中、レーン1及び6はBamHI、レーン2及び7はBglIII、レーン3及び8はEcoRI、レーン4及び9はHindIII、レーン5及び10はPstIで消化した断片のものである。図4Aの結果から、マウスWRN 遺伝子は、マウスゲノム上でシングルコピーとして存在している可能性が示唆される。

【0123】(2) Zoo Blot

9種類の動物由来のゲノムDNA 各4 µgをアガロース電気泳動して、ナイロン膜にプロットしたプリメイドフィルター(Clontech社製)を使用した(図4B)。マウスWRN遺伝子の検出プローブは、前述と同様で、ハイブリダイゼーション及び洗浄条件は、Clontechのプロトコールに従った。図4Bより、マウスWRN 遺伝子は、種を越えて良く保存されていることがわかった。

【0124】なお、ゲノムDNAの由来は以下の通りである。a, ヒト; b, サル; c, ラット; d, マウス; e, イヌ; f, ウシ; g, ウサギ; h, ニワトリ; i, 酵母。

【0125】〔実施例4〕マウスWRN のノーザンプロットによる解析

(1) マウスWRN のノーザンプロット解析

(i) マウス多組織ノーザン (Multiple Tissue Northern; MTN) プロット

8種類のマウスの組織・臓器より抽出した poly(A)+ RNA 各2 µgをアガロース電気泳動して、ナイロン膜にプロットしたプリメイドフィルター(Clontech社製)を使用した(図5)。

【0126】(ii) マウスWRN cDNA プローブ

マウスWRN cDNAの3'-UT 部分(278 bp)を後述の方法に従い放射性ラベルし、これをマウスWRN 遺伝子の検出プローブとして用いた。

【0127】(2) ハイブリダイゼーション

(i) プレハイブリダイゼーション

フィルターを弁当箱型ポリ容器の中で、100 mlのプレハイブリダイゼーションバッファーに浸し、42℃で4時間インキュベーションした。プレハイブリダイゼーション

バッファーには、50%ホルムアミド、5×SSPE、10×Denhardt's溶液、2% SDS及び100 µg/ml 変性サケ精子DNA断片を含むものを用いた。

【0128】(ii) マウス WRN cDNA プローブの放射性ラベリング

テンプレートとして前述のマウスWRN cDNA断片50 ng、プライマーとしてランダムヘキサマー50 pmolを用い、ランダムプライマーDNAラベリングキットVer. 2(宝酒造社製)により[α-³²P]-dCTP(NEN社製、第一化学薬品社製)で放射性ラベルした。

【0129】(iii) ハイブリダイゼーション

プレハイブリダイゼーションバッファーを棄て、新たに50mlのプレハイブリダイゼーションバッファーを加え、気泡がフィルターの下に入りこまないように穏やかに振盪した。これに³²P-dCTPで放射性ラベルしたプローブを比活性が約1×10⁶cpm/mlとなるように加え、42℃で16時間ハイブリダイズした。

【0130】ハイブリダイゼーションの後、フィルターに対し、100 mlの2×SSC、0.1% SDS溶液を用いて室温で15分のリンスを2回繰り返し、次に100 mlの0.2×SSC、0.1% SDS溶液を用いて室温で15分のリンスを2回行った。フィルターがやや湿った状態になるまで水分を除き、サランラップ(旭化成社製)にはさんでBAS1500システム(富士フィルム社製)によるオートラジオグラフィ解析を行った。

【0131】(3) Fuji BAS1500システムによる解析

輝天性蛍光体を用いた放射線エネルギーメモリ型2次元センサー(イメージングプレート; IP)に、X線フィルム同様にサンプルを密着露光させ、このIPをHe-Ne レーザー光で励起させ、露光量に応じて放出される蛍光をPSL(Photo Stimulated Luminescence)というデジタル量に変換して定量した。定量はBAS1500システムを用いた。このシステムによる定量値の直線性は良好であり、バックグラウンドの減算、指定領域内の放射線強度の計測、比較が行える。

【0132】(4) マウスWRN mRNAの組織特異的発現結果
マウス各組織・臓器由来の2mg poly(A)+RNAを含む MTN プロット(CLONTECH社製)に³²P 標識したマウスWRN cDNAの3'-UT をプローブにハイブリダイズさせた。

【0133】マウスWRN mRNAの発現は、各種の臓器で幅広く認められ、図5のようなパターンを示した。すなわち、マウスWRN 遺伝子は、脾臓及び精巣に於て強く発現し、肺、肝臓、腎臓において中程度に発現し、脳、心臓及び骨格筋に於ては僅かしか発現していないことがわかった。Poly (A)+ RNAの起源は以下の通りである。

a, 心臓; b, 脳; c, 脾臓; d, 肺; e, 肝臓; f, 骨格筋; g, 腎臓; h, 精巣。

【0134】

【発明の効果】本発明により、マウスWRN 遺伝子が提供される。本発明のマウスWRN 遺伝子は、ヒトのウェルナ

一症候群病発症との関連を解明するための研究に有用であると共に、生体の恒常性維持を司るメカニズムを解明うえでも有用であり、また、生命の基本的な恒常性を維持するための新規医薬品の創製にも有用である。

【0135】さらに、本発明のマウスWRN 遺伝子は、ウェルナー症候群病発症との関連性のある病気の検査・予防のための診断プローブとして、あるいは、マウス個体の発生に関する医科学的、細胞生物学的、免疫学的、生化学的及び分子生物学的研究のための試薬として有用である。

【0136】

* 【配列表】

配列番号：1

配列の長さ：5058

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源

生物名：マウス

10 配列の特徴

* 他の情報：mouse WRN helicase

配列：

```

GGCAGGCGCC AGACCAGAAG TGCACCGAGG CGCCCGTTGG TATAAAGTTA GTAAATGTGA   60
GGCCTGTCTC GATGCCTGGG TCCTGGGCTT TGGTTCTCAG TCCTCCATAA ATCATCCTGC   120
TGGAGGAGAA GACCCTAGA TCTGGCTCTT CTCAGGGGCA TTTTAAAGAC AAATGAAAT   180
AAA ATG GAA ACC ACT TCA CTA CAG CGG AAA TTT CCA GAA TGG ATG TCT   228
Met Glu Thr Thr Ser Leu Gln Arg Lys Phe Pro Glu Trp Met Ser
      1             5             10            15
ATG CAG AGT CAA AGA TGT GCT ACA GAA GAA AAG GCC TGC GTT CAG AAG   276
Met Gln Ser Gln Arg Cys Ala Thr Glu Glu Lys Ala Cys Val Gln Lys
      20            25            30
AGT GTT CTT GAA GAT AAT CTC CCA TTC TTA GAA TTC CCT GGA TCC ATT   324
Ser Val Leu Glu Asp Asn Leu Pro Phe Leu Glu Phe Pro Gly Ser Ile
      35            40            45
GTT TAC AGT TAT GAA GCT AGT GAT TGC TCC TTC CTG TCT GAA GAC ATT   372
Val Tyr Ser Tyr Glu Ala Ser Asp Cys Ser Phe Leu Ser Glu Asp Ile
      50            55            60
AGC ATG CGT CTG TCT GAT GGC GAT GTG GTG GGA TTT GAC ATG GAA TGG   420
Ser Met Arg Leu Ser Asp Gly Asp Val Val Gly Phe Asp Met Glu Trp
      65            70            75
CCG CCC ATA TAC AAG CCA GGG AAA CGA AGC AGA GTC GCA GTG ATC CAG   468
Pro Pro Ile Tyr Lys Pro Gly Lys Arg Ser Arg Val Ala Val Ile Gln
      80            85            90            95
TTG TGT GTG TCT GAG AAC AAA TGT TAC TTG TTT CAC ATT TCT TCC ATG   516
Leu Cys Val Ser Glu Asn Lys Cys Tyr Leu Phe His Ile Ser Ser Met
      100           105           110
TCA GTT TTC CCC CAG GGA TTA AAA ATG TTA CTA GAA AAC AAA TCA ATT   564
Ser Val Phe Pro Gln Gly Leu Lys Met Leu Leu Glu Asn Lys Ser Ile
      115           120           125
AAG AAG GCA GGG GTT GGG ATT GAA GGG GAC CAG TGG AAA CTT CTG CGT   612
Lys Lys Ala Gly Val Gly Ile Glu Gly Asp Gln Trp Lys Leu Leu Arg
      130           135           140
GAT TTT GAC GTC AAG TTG GAG AGT TTT GTG GAG CTG ACG GAT GTT GCC   660
Asp Phe Asp Val Lys Leu Glu Ser Phe Val Glu Leu Thr Asp Val Ala
      145           150           155
AAT GAA AAG TTG AAG TGC GCA GAG ACC TGG AGC CTC AAT GGT CTG GTT   708
Asn Glu Lys Leu Lys Cys Ala Glu Thr Trp Ser Leu Asn Gly Leu Val
      160           165           170           175
AAA CAC GTC TTA GGG AAA CAA CTT TTG AAA GAC AAG TCC ATC CGC TGC   756
Lys His Val Leu Gly Lys Gln Leu Lys Asp Lys Ser Ile Arg Cys

```


25	180	185	190	26
AGC AAT TGG AGT AAT TTC CCC CTC ACT GAG GAC CAG AAA CTG TAT GCA				804
Ser Asn Trp Ser Asn Phe Pro Leu Thr Glu Asp Gln Lys Leu Tyr Ala				
195	200	205		
GCC ACT GAT GCC TAT GCT GGT CTT ATC ATC TAT CAA AAA TTA GGA AAT				852
Ala Thr Asp Ala Tyr Ala Gly Leu Ile Ile Tyr Gln Lys Leu Gly Asn				
210	215	220		
TTG GGT GAT ACT GTG CAA GTG TTT GCT CTA AAT AAA GCA GAG GAA AAC				900
Leu Gly Asp Thr Val Gln Val Phe Ala Leu Asn Lys Ala Glu Glu Asn				
225	230	235		
CTA CCT CTG GAG ATG AAG AAA CAG TTG AAT TTA ATC TCC GAA GAA ATG				948
Leu Pro Leu Glu Met Lys Lys Gln Leu Asn Leu Ile Ser Glu Glu Met				
240	245	250	255	
AGG GAT CTA GCC AAT CGT TTT CCA GTC ACT TGC AGA AAT TTG GAA ACT				996
Arg Asp Leu Ala Asn Arg Phe Pro Val Thr Cys Arg Asn Leu Glu Thr				
260	265	270		
CTC CAG AGG GTT CCT GTA ATA TTG AAG AGT ATT TCA GAA AAT CTC TGT				1044
Leu Gln Arg Val Pro Val Ile Leu Lys Ser Ile Ser Glu Asn Leu Cys				
275	280	285		
TCA TTG AGA AAA GTG ATC TGT GGT CCT ACA AAC ACT GAG ACT AGA CTG				1092
Ser Leu Arg Lys Val Ile Cys Gly Pro Thr Asn Thr Glu Thr Arg Leu				
290	295	300		
AAG CCG GGC AGT AGT TTT AAT TTA CTG TCA TCA GAA GAT TCA GCT GCT				1140
Lys Pro Gly Ser Ser Phe Asn Leu Leu Ser Ser Glu Asp Ser Ala Ala				
305	310	315		
GCT GGA GAA AAA GAG AAA CAG ATT GGA AAA CAT AGT ACT TTT GCT AAA				1188
Ala Gly Glu Lys Glu Lys Gln Ile Gly Lys His Ser Thr Phe Ala Lys				
320	325	330	335	
ATT AAA GAA GAA CCA TGG GAC CCA GAA CTT GAC AGT TTA GTG AAG CAA				1236
Ile Lys Glu Glu Pro Trp Asp Pro Glu Leu Asp Ser Leu Val Lys Gln				
340	345	350		
GAG GAG GTT GAT GTA TTT AGA AAT CAA GTG AAG CAA GAA AAA GGT GAA				1284
Glu Glu Val Asp Val Phe Arg Asn Gln Val Lys Gln Glu Lys Gly Glu				
355	360	365		
TCT GAA AAT GAA ATA GAA GAT AAT CTG TTG AGA GAA GAT ATG GAA AGA				1332
Ser Glu Asn Glu Ile Glu Asp Asn Leu Leu Arg Glu Asp Met Glu Arg				
370	375	380		
ACT TGT GTG ATT CCT AGT ATT TCA GAA AAT GAA CTC CAA GAT TTG GAA				1380
Thr Cys Val Ile Pro Ser Ile Ser Glu Asn Glu Leu Gln Asp Leu Glu				
385	390	395		
CAG CAA GCT AAA GAA GAA AAA TAT AAT GAT GTT TCT CAC CAA CTT TCT				1428
Gln Gln Ala Lys Glu Glu Lys Tyr Asn Asp Val Ser His Gln Leu Ser				
400	405	410	415	
GAG CAT TTA TCT CCC AAT GAT GAT GAG AAT GAC TCC TCC TAT ATA ATT				1476
Glu His Leu Ser Pro Asn Asp Asp Glu Asn Asp Ser Ser Tyr Ile Ile				
420	425	430		
GAA AGT GAT GAA GAT TTG GAA ATG GAG ATG CTG AAG TCT TTA GAA AAC				1524
Glu Ser Asp Glu Asp Leu Glu Met Glu Met Leu Lys Ser Leu Glu Asn				
435	440	445		
CTA AAT AGT GAC ATG GTG GAA CCC AGC CAC TCT AAA TGG TTG GAA ATG				1572

27		28
Leu Asn Ser Asp Met Val Glu Pro Thr His Ser Lys Trp Leu Glu Met		
450	455	460
GGA ACC AAT GGG TGT CTT CCT CCT GAG GAG GAA GAT GGA CAC GGA AAT		1620
Gly Thr Asn Gly Cys Leu Pro Pro Glu Glu Glu Asp Gly His Gly Asn		
465	470	475
GAA GCC ATC AAA GAG GAG CAG GAA GAA GAG GAC CAT TTA TTG CCG GAA		1668
Glu Ala Ile Lys Glu Glu Gln Glu Glu Glu Asp His Leu Leu Pro Glu		
480	485	490
CCC AAC GCA AAG CAA ATT AAT TGC CTC AAG ACC TAT TTC GGA CAC AGC		1716
Pro Asn Ala Lys Gln Ile Asn Cys Leu Lys Thr Tyr Phe Gly His Ser		
500	505	510
AGT TTT AAA CCG GTT CAG TGG AAA GTC ATC CAT TCT GTA TTA GAA GAG		1764
Ser Phe Lys Pro Val Gln Trp Lys Val Ile His Ser Val Leu Glu Glu		
515	520	525
AGA AGA GAT AAT GTT GTT GTC ATG GCA ACT GGA TAT GGG AAG AGT CTG		1812
Arg Arg Asp Asn Val Val Val Met Ala Thr Gly Tyr Gly Lys Ser Leu		
530	535	540
TGC TTC CAG TAT CCG CCT GTT TAT ACA GGC AAG ATT GGC ATT GTC ATT		1860
Cys Phe Gln Tyr Pro Pro Val Tyr Thr Gly Lys Ile Gly Ile Val Ile		
545	550	555
TCA CCT CTC ATT TCC TTA ATG GAA GAC CAA GTC CTC CAG CTT GAG CTA		1908
Ser Pro Leu Ile Ser Leu Met Glu Asp Gln Val Leu Gln Leu Glu Leu		
560	565	570
TCC AAT GTT CCA GCC TGT TTA CTT GGA TCT GCA CAA TCA AAA AAT ATT		1956
Ser Asn Val Pro Ala Cys Leu Leu Gly Ser Ala Gln Ser Lys Asn Ile		
580	585	590
CTA GGA GAT GTT AAA TTA GGC AAA TAT AGG GTC ATC TAC ATA ACT CCA		2004
Leu Gly Asp Val Lys Leu Gly Lys Tyr Arg Val Ile Tyr Ile Thr Pro		
595	600	605
GAG TTC TGT TCT GGT AAC TTG GAT CTA CTC CAG AAA CTT GAC TCT AGT		2052
Glu Phe Cys Ser Gly Asn Leu Asp Leu Leu Gln Lys Leu Asp Ser Ser		
610	615	620
ATT GGC ATC ACT CTC ATT GCT GTG GAT GAG GCT CAC TGC ATT TCA GAG		2100
Ile Gly Ile Thr Leu Ile Ala Val Asp Glu Ala His Cys Ile Ser Glu		
625	630	635
TGG GGC CAT GAT TTC AGA AGT TCA TTC AGG ATG CTG GGC TCT CTT AAA		2148
Trp Gly His Asp Phe Arg Ser Ser Phe Arg Met Leu Gly Ser Leu Lys		
640	645	650
ACA GCG CTC CCA TTG GTT CCA GTC ATT GCA CTC TCC GCT ACT GCA AGC		2196
Thr Ala Leu Pro Leu Val Pro Val Ile Ala Leu Ser Ala Thr Ala Ser		
660	665	670
TCT TCC ATC CGG GAA GAC ATT ATA AGC TGC TTA AAC CTG AAA GAC CCT		2244
Ser Ser Ile Arg Glu Asp Ile Ile Ser Cys Leu Asn Leu Lys Asp Pro		
675	680	685
CAG ATC ACC TGC ACT GGA TTT GAT CGG CCA AAT CTG TAC TTA GAA GTT		2292
Gln Ile Thr Cys Thr Gly Phe Asp Arg Pro Asn Leu Tyr Leu Glu Val		
690	695	700
GGA CGG AAA ACA GGG AAC ATC CTT CAG GAT CTA AAG CCG TTT CTC GTC		2340
Gly Arg Lys Thr Gly Asn Ile Leu Gln Asp Leu Lys Pro Phe Leu Val		
705	710	715

29

30

CGA AAG GCA AGT TCT GCC TGG GAA TTT GAA GGT CCA ACC ATC ATC TAT	2388
Arg Lys Ala Ser Ser Ala Trp Glu Phe Glu Gly Pro Thr Ile Ile Tyr	
720 725 730 735	
TGT CCT TCG AGA AAA ATG ACA GAA CAA GTT ACT GCT GAA CTT GGG AAA	2436
Cys Pro Ser Arg Lys Met Thr Glu Gln Val Thr Ala Glu Leu Gly Lys	
740 745 750	
CTG AAC TTA GCC TGC AGA ACA TAC CAC GCT GGC ATG AAA ATT AGC GAA	2484
Leu Asn Leu Ala Cys Arg Thr Tyr His Ala Gly Met Lys Ile Ser Glu	
755 760 765	
AGG AAG GAC GTT CAT CAT AGG TTC CTG AGA GAT GAA ATT CAG TGT GTT	2532
Arg Lys Asp Val His His Arg Phe Leu Arg Asp Glu Ile Gln Cys Val	
770 775 780	
GTA GCT ACT GTA GCT TTT GGA ATG GGC ATT AAT AAA GCT GAC ATT CGC	2580
Val Ala Thr Val Ala Phe Gly Met Gly Ile Asn Lys Ala Asp Ile Arg	
785 790 795	
CAA GTT ATT CAT TAT GGT GCG CCT AAG GAA ATG GAA TCC TAT TAC CAG	2628
Gln Val Ile His Tyr Gly Ala Pro Lys Glu Met Glu Ser Tyr Tyr Gln	
800 805 810 815	
GAA ATT GGT AGA GCT GGC CGG GAT GGA CTT CAG AGT TCC TGT CAC TTG	2676
Glu Ile Gly Arg Ala Gly Arg Asp Gly Leu Gln Ser Ser Cys His Leu	
820 825 830	
CTC TGG GCT CCA GCA GAC TTT AAC ACA TCC AGG AAT CTC CTT ATT GAG	2724
Leu Trp Ala Pro Ala Asp Phe Asn Thr Ser Arg Asn Leu Leu Ile Glu	
835 840 845	
ATT CAC GAT GAA AAG TTC CGG TTA TAT AAA TTA AAG ATG ATG GTA AAG	2772
Ile His Asp Glu Lys Phe Arg Leu Tyr Lys Leu Lys Met Met Val Lys	
850 855 860	
ATG GAA AAA TAC CTT CAC TCC AGT CAG TGT AGG CGA CGA ATC ATC TTG	2820
Met Glu Lys Tyr Leu His Ser Ser Gln Cys Arg Arg Arg Ile Ile Leu	
865 870 875	
TCC CAT TTT GAG GAC AAA TGT CTG CAG AAG GCC TCC TTG GAC ATT ATG	2868
Ser His Phe Glu Asp Lys Cys Leu Gln Lys Ala Ser Leu Asp Ile Met	
880 885 890 895	
GGA ACT GAA AAA TGC TGT GAT AAT TGC AGG CCC AGG CTG AAT CAT TGC	2916
Gly Thr Glu Lys Cys Cys Asp Asn Cys Arg Pro Arg Leu Asn His Cys	
900 905 910	
CTT ACT GCT AAC AAC TCA GAG GAC GCA TCC CAA GAC TTT GGG CCA CAA	2964
Leu Thr Ala Asn Asn Ser Glu Asp Ala Ser Gln Asp Phe Gly Pro Gln	
915 920 925	
GCA TTC CAG CTA CTG TCT GCT GTG GAC ATC CTG CAG GAG AAA TTT GGA	3012
Ala Phe Gln Leu Leu Ser Ala Val Asp Ile Leu Gln Glu Lys Phe Gly	
930 935 940	
ATT GGG ATT CCG ATC TTA TTT CTC CGA GGA TCT AAT TCT CAG CGT CTT	3060
Ile Gly Ile Pro Ile Leu Phe Leu Arg Gly Ser Asn Ser Gln Arg Leu	
945 950 955	
CCT GAT AAA TAT CGG GGT CAC AGG CTC TTT GGT GCT GGA AAG GAG CAA	3108
Pro Asp Lys Tyr Arg Gly His Arg Leu Phe Gly Ala Gly Lys Glu Gln	
960 965 970 975	
GCA GAA AGT TGG TGG AAG ACT CTT TCT CAC CAT CTC ATA GCT GAA GGA	3156
Ala Glu Ser Trp Trp Lys Thr Leu Ser His His Leu Ile Ala Glu Gly	

31

32

	980	985	990	
TTC TTG GTA GAG GTT CCC AAG GAA AAC AAA TAT ATA AAG ACA TGT TCC				3204
Phe Leu Val Glu Val Pro Lys Glu Asn Lys Tyr Ile Lys Thr Cys Ser				
	995	1000	1005	
CTC ACA AAA AAG GGT AGA AAG TGG CTT GGA GAA GCC AGT TTG CAG TCT				3252
Leu Thr Lys Lys Gly Arg Lys Trp Leu Gly Glu Ala Ser Leu Gln Ser				
	1010	1015	1020	
CCT CCG AGC CTT CTC CTT CAA GCT AAT GAA GAG ATG TTT CCA AGG AAA				3300
Pro Pro Ser Leu Leu Leu Gln Ala Asn Glu Glu Met Phe Pro Arg Lys				
	1025	1030	1035	
GTT CTG CTA CCA AGT TCT AAT CCT GTA TCT CCA GAA ACG ACG CAA CAT				3348
Val Leu Leu Pro Ser Ser Asn Pro Val Ser Pro Glu Thr Thr Gln His				
	1040	1045	1050	1055
TCC TCT AAT CAA AAC CCA GCT GGA TTA ACT ACC AAG CAG TCT AAT TTG				3396
Ser Ser Asn Gln Asn Pro Ala Gly Leu Thr Thr Lys Gln Ser Asn Leu				
	1060	1065	1070	
GAG AGG ACG CAT TCT TAC AAA GTG CCT GAG AAA GTT TCT TCT GGG AGT				3444
Glu Arg Thr His Ser Tyr Lys Val Pro Glu Lys Val Ser Ser Gly Ser				
	1075	1080	1085	
AAC ATT CCT AAA AAA AGT GCC GTG ATG CCG TCA CCA GGA ACA TCT TCC				3492
Asn Ile Pro Lys Lys Ser Ala Val Met Pro Ser Pro Gly Thr Ser Ser				
	1090	1095	1100	
AGC CCC TTA GAA CCT GCC ATC TCA GCC CAA GAG CTG GAC GCT CGG ACT				3540
Ser Pro Leu Glu Pro Ala Ile Ser Ala Gln Glu Leu Asp Ala Arg Thr				
	1105	1110	1115	
GGG CTA TAT GCC AGG TTG GTG GAA GCA AGG CAG AAA CAC GCT AAT AAG				3588
Gly Leu Tyr Ala Arg Leu Val Glu Ala Arg Gln Lys His Ala Asn Lys				
	1120	1125	1130	1135
ATG GAT GTA CCT CCA GCT ATT TTA GCA GCA AAC AAG GTT TTG CTG GAC				3636
Met Asp Val Pro Pro Ala Ile Leu Ala Ala Asn Lys Val Leu Leu Asp				
	1140	1145	1150	
ATG GCT AAA ATG AGA CCG ACT ACT GTT GAA AAC ATG AAA CAG ATC GAC				3684
Met Ala Lys Met Arg Pro Thr Thr Val Glu Asn Met Lys Gln Ile Asp				
	1155	1160	1165	
GGT GTC TCT GAA GGC AAA GCT GCT CTG TTG GCC CCT CTG GTG GGA GTC				3732
Gly Val Ser Glu Gly Lys Ala Ala Leu Leu Ala Pro Leu Val Gly Val				
	1170	1175	1180	
ATC AAA CAT TTC TGT CAA GTA ACT AGT GTT CAG ACA GAC CTC CTT TCC				3780
Ile Lys His Phe Cys Gln Val Thr Ser Val Gln Thr Asp Leu Leu Ser				
	1185	1190	1195	
AGT GCC AAA CCT CAC AAG GAA CAG GAG AAA AGT CAG GAG ATG GAA AAG				3828
Ser Ala Lys Pro His Lys Glu Gln Glu Lys Ser Gln Glu Met Glu Lys				
	1200	1205	1210	1215
AAA GAC TGC TCA CTC CCC CAG TCT GTG GCC GTC ACA TAC ACT TTA TTC				3876
Lys Asp Cys Ser Leu Pro Gln Ser Val Ala Val Thr Tyr Thr Leu Phe				
	1220	1225	1230	
CAG GAA AAG AAA ATG CCC TTA CAC AGC ATA GCT GAG AAC AGG CTC CTG				3924
Gln Glu Lys Lys Met Pro Leu His Ser Ile Ala Glu Asn Arg Leu Leu				
	1235	1240	1245	
CCT CTC ACA GCA GTC GGC ATG CAC TTT GCC CAG GCG GTG AAA GCC GGC				3972

33 34

Pro Leu Thr Ala Val Gly Met His Leu Ala Gln Ala Val Lys Ala Gly

1250 1255 1260

TGC CCC CTG GAT ATG GAG CGA GCT GGC CTG ACC CCA GAG ACT TGG AAG 4020

Cys Pro Leu Asp Met Glu Arg Ala Gly Leu Thr Pro Glu Thr Trp Lys

1265 1270 1275

ATT ATT ATG GAT GTC ATC CGA AAC CCT CCC ATC AAC TCA GAT ATG TAT 4068

Ile Ile Met Asp Val Ile Arg Asn Pro Pro Ile Asn Ser Asp Met Tyr

1280 1285 1290 1295

AAA GTT AAA CTC ATC AGA ATG TTA GTT CCT GAA AAC ATC GAC ACG TAC 4116

Lys Val Lys Leu Ile Arg Met Leu Val Pro Glu Asn Ile Asp Thr Tyr

1300 1305 1310

CTC ATC CAC ATG GCG ATT GAG ATT CTT CAG AGT GGT TCC GAC AGC AGA 4164

Leu Ile His Met Ala Ile Glu Ile Leu Gln Ser Gly Ser Asp Ser Arg

1315 1320 1325

ACC CAG CCT CCT TGT GAT TCC AGC AGG AAG AGG CGT TTC CCC AGC TCT 4212

Thr Gln Pro Pro Cys Asp Ser Ser Arg Lys Arg Arg Phe Pro Ser Ser

1330 1335 1340

GCA GAG AGT TGT GAG AGC TGT AAG GAG AGC AAA GAG GTG GTC ACC GAG 4260

Ala Glu Ser Cys Glu Ser Cys Lys Glu Ser Lys Glu Val Val Thr Glu

1345 1350 1355

ACC AAG GCA TCA TCT TCA GAG TCA AAG AGA AAA TTA CCT GAG TGG TTT 4308

Thr Lys Ala Ser Ser Ser Glu Ser Lys Arg Lys Leu Pro Glu Trp Phe

1360 1365 1370 1375

GCC AAA GGA AAT GTG CCC TCA GCT GAT ACC GGC AGC TCA TCA TCA ATG 4356

Ala Lys Gly Asn Val Pro Ser Ala Asp Thr Gly Ser Ser Ser Ser Met

1380 1385 1390

GCC AAG ACC AAA AAG AAA GGT CTC TTT AGT TAA 4389

Ala Lys Thr Lys Lys Lys Gly Leu Phe Ser

1395 1400

GATGACAACG ATGGAACAGT TTGTGTGTCC TACATCTTCA TTCCTATAAA GAATGAAAAG 4449

AAATATTTTA ACCTCAAAAT TATTTAAAGT CCAAAGTGAA GCTCACCTAA ACGTCGAGCC 4509

ATAGAGTCTT TAATTGCCCG TTGGCAGTTG AGCTACAGTA TCTGAACCTT CTGAGACCCG 4569

GAGTGCAGCA TAGACTGTGA AGTCGGCTTC CTTTCCGATT GCCTTCCGAA CCGGTGCCAC 4629

TGTCAGGTG CAGTTTTTCT TTTTGTGCAG CAGTGTGTGT TGGAAATGGA GGCTGTGTGC 4689

CTTTGACATA TAGAACAGAT CAATAGTTGC ATAGGGACAG ATATGAAGAT ACAGCCGGTC 4749

TTTGCTTTCT TATGCAGATG CCTGTATGAC AGTATCAGTG CACCAGCCCA GCCAGGGAGA 4809

ATCAGCTTCC ATTTAAAAAG GGAAAGCGGA CAAGGACTCC AGTTACAGAA ACAACTAAAT 4869

TTTATGCATT TTCTGCAGTT TTTATTATTT CTCAATCAAA AGTGTTTTTT GTAAGAATA 4929

GTAATATAC TAAATTTTCA TTTTTTAAAT TGTTGTGAGT GCCTTCAATA TTTGAAGATG 4989

CCAATTTTTA ATGTTTTTAT GTTTCACAAA GAATTAAAAA ACTGGAAAAA AAAAAAAAAA 5049

AAAAAAAAA 5058

【0137】配列番号：2

配列の長さ：1401

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

* 起源

生物名：マウス

配列の特徴

他の情報：mouse WRN helicase

*

配列：

Met Glu Thr Thr Ser Leu Gln Arg Lys Phe Pro Glu Trp Met Ser

1

5

10

15

Met Gln Ser Gln Arg Cys Ala Thr Gln Glu Lys Ala Cys Val Gln Lys

35										36									
20					25					30									
Ser	Val	Leu	Glu	Asp	Asn	Leu	Pro	Phe	Leu	Glu	Phe	Pro	Gly	Ser	Ile				
35					40					45									
Val	Tyr	Ser	Tyr	Glu	Ala	Ser	Asp	Cys	Ser	Phe	Leu	Ser	Glu	Asp	Ile				
50					55					60									
Ser	Met	Arg	Leu	Ser	Asp	Gly	Asp	Val	Val	Gly	Phe	Asp	Met	Glu	Trp				
65					70					75									
Pro	Pro	Ile	Tyr	Lys	Pro	Gly	Lys	Arg	Ser	Arg	Val	Ala	Val	Ile	Gln				
80					85					90					95				
Leu	Cys	Val	Ser	Glu	Asn	Lys	Cys	Tyr	Leu	Phe	His	Ile	Ser	Ser	Met				
100					105					110									
Ser	Val	Phe	Pro	Gln	Gly	Leu	Lys	Met	Leu	Leu	Glu	Asn	Lys	Ser	Ile				
115					120					125									
Lys	Lys	Ala	Gly	Val	Gly	Ile	Glu	Gly	Asp	Gln	Trp	Lys	Leu	Leu	Arg				
130					135					140									
Asp	Phe	Asp	Val	Lys	Leu	Glu	Ser	Phe	Val	Glu	Leu	Thr	Asp	Val	Ala				
145					150					155									
Asn	Glu	Lys	Leu	Lys	Cys	Ala	Glu	Thr	Trp	Ser	Leu	Asn	Gly	Leu	Val				
160					165					170					175				
Lys	His	Val	Leu	Gly	Lys	Gln	Leu	Leu	Lys	Asp	Lys	Ser	Ile	Arg	Cys				
180					185					190									
Ser	Asn	Trp	Ser	Asn	Phe	Pro	Leu	Thr	Glu	Asp	Gln	Lys	Leu	Tyr	Ala				
195					200					205									
Ala	Thr	Asp	Ala	Tyr	Ala	Gly	Leu	Ile	Ile	Tyr	Gln	Lys	Leu	Gly	Asn				
210					215					220									
Leu	Gly	Asp	Thr	Val	Gln	Val	Phe	Ala	Leu	Asn	Lys	Ala	Glu	Glu	Asn				
225					230					235									
Leu	Pro	Leu	Glu	Met	Lys	Lys	Gln	Leu	Asn	Leu	Ile	Ser	Glu	Glu	Met				
240					245					250					255				
Arg	Asp	Leu	Ala	Asn	Arg	Phe	Pro	Val	Thr	Cys	Arg	Asn	Leu	Glu	Thr				
260					265					270									
Leu	Gln	Arg	Val	Pro	Val	Ile	Leu	Lys	Ser	Ile	Ser	Glu	Asn	Leu	Cys				
275					280					285									
Ser	Leu	Arg	Lys	Val	Ile	Cys	Gly	Pro	Thr	Asn	Thr	Glu	Thr	Arg	Leu				
290					295					300									
Lys	Pro	Gly	Ser	Ser	Phe	Asn	Leu	Leu	Ser	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Ala				
305					310					315									
Ala	Gly	Glu	Lys	Glu	Lys	Gln	Ile	Gly	Lys	His	Ser	Thr	Phe	Ala	Lys				
320					325					330					335				
Ile	Lys	Glu	Glu	Pro	Trp	Asp	Pro	Glu	Leu	Asp	Ser	Leu	Val	Lys	Gln				
340					345					350									
Glu	Glu	Val	Asp	Val	Phe	Arg	Asn	Gln	Val	Lys	Gln	Glu	Lys	Gly	Glu				
355					360					365									
Ser	Glu	Asn	Glu	Ile	Glu	Asp	Asn	Leu	Leu	Arg	Glu	Asp	Met	Glu	Arg				
370					375					380									
Thr	Cys	Val	Ile	Pro	Ser	Ile	Ser	Glu	Asn	Glu	Leu	Gln	Asp	Leu	Glu				
385					390					395									
Gln	Gln	Ala	Lys	Glu	Glu	Lys	Tyr	Asn	Asp	Val	Ser	His	Gln	Leu	Ser				
400					405					410					415				
Glu	His	Leu	Ser	Pro	Asn	Asp	Asp	Glu	Asn	Asp	Ser	Ser	Tyr	Ile	Ile				

37

38

	420	425	430
Glu Ser Asp	Glu Asp Leu Glu Met	Glu Met Leu Lys Ser	Leu Glu Asn
435	440	445	
Leu Asn Ser	Asp Met Val Glu Pro Thr His	Ser Lys Trp Leu Glu Met	
450	455	460	
Gly Thr Asn	Gly Cys Leu Pro Pro Glu Glu Glu Asp	Gly His Gly Asn	
465	470	475	
Glu Ala Ile	Lys Glu Glu Gln Glu Glu Asp His	Leu Leu Pro Glu	
480	485	490	495
Pro Asn Ala	Lys Gln Ile Asn Cys Leu Lys Thr Tyr Phe	Gly His Ser	
500	505	510	
Ser Phe Lys	Pro Val Gln Trp Lys Val Ile His	Ser Val Leu Glu Glu	
515	520	525	
Arg Arg Asp	Asn Val Val Val Met Ala Thr Gly Tyr	Gly Lys Ser Leu	
530	535	540	
Cys Phe Gln	Tyr Pro Pro Val Tyr Thr Gly Lys Ile	Gly Ile Val Ile	
545	550	555	
Ser Pro Leu	Ile Ser Leu Met Glu Asp Gln Val Leu Gln	Leu Glu Leu	
560	565	570	575
Ser Asn Val	Pro Ala Cys Leu Leu Gly Ser Ala Gln	Ser Lys Asn Ile	
580	585	590	
Leu Gly Asp	Val Lys Leu Gly Lys Tyr Arg Val Ile Tyr	Ile Thr Pro	
595	600	605	
Glu Phe Cys	Ser Gly Asn Leu Asp Leu Leu Gln Lys	Leu Asp Ser Ser	
610	615	620	
Ile Gly Ile	Thr Leu Ile Ala Val Asp Glu Ala His	Cys Ile Ser Glu	
625	630	635	
Trp Gly His	Asp Phe Arg Ser Ser Phe Arg Met Leu	Gly Ser Leu Lys	
640	645	650	655
Thr Ala Leu	Pro Leu Val Pro Val Ile Ala Leu Ser	Ala Thr Ala Ser	
660	665	670	
Ser Ser Ile	Arg Glu Asp Ile Ile Ser Cys Leu Asn	Leu Lys Asp Pro	
675	680	685	
Gln Ile Thr	Cys Thr Gly Phe Asp Arg Pro Asn Leu	Tyr Leu Glu Val	
690	695	700	
Gly Arg Lys	Thr Gly Asn Ile Leu Gln Asp Leu Lys	Pro Phe Leu Val	
705	710	715	
Arg Lys Ala	Ser Ser Ala Trp Glu Phe Glu Gly Pro	Thr Ile Ile Tyr	
720	725	730	735
Cys Pro Ser	Arg Lys Met Thr Glu Gln Val Thr Ala	Glu Leu Gly Lys	
740	745	750	
Leu Asn Leu	Ala Cys Arg Thr Tyr His Ala Gly Met	Lys Ile Ser Glu	
755	760	765	
Arg Lys Asp	Val His His Arg Phe Leu Arg Asp	Glu Ile Gln Cys Val	
770	775	780	
Val Ala Thr	Val Ala Phe Gly Met Gly Ile Asn Lys	Ala Asp Ile Arg	
785	790	795	
Gln Val Ile	His Tyr Gly Ala Pro Lys Glu Met Glu	Ser Tyr Tyr Gln	
800	805	810	815
Glu Ile Gly	Arg Ala Gly Arg Asp Glu	Leu Gln Ser Ser Cys His Leu	

39

40

	820	825	830
Leu Trp Ala Pro Ala Asp Phe Asn Thr Ser Arg Asn Leu Leu Ile Glu			
835	840	845	
Ile His Asp Glu Lys Phe Arg Leu Tyr Lys Leu Lys Met Met Val Lys			
850	855	860	
Met Glu Lys Tyr Leu His Ser Ser Gln Cys Arg Arg Arg Ile Ile Leu			
865	870	875	
Ser His Phe Glu Asp Lys Cys Leu Gln Lys Ala Ser Leu Asp Ile Met			
880	885	890	895
Gly Thr Glu Lys Cys Cys Asp Asn Cys Arg Pro Arg Leu Asn His Cys			
900	905	910	
Leu Thr Ala Asn Asn Ser Glu Asp Ala Ser Gln Asp Phe Gly Pro Gln			
915	920	925	
Ala Phe Gln Leu Leu Ser Ala Val Asp Ile Leu Gln Glu Lys Phe Gly			
930	935	940	
Ile Gly Ile Pro Ile Leu Phe Leu Arg Gly Ser Asn Ser Gln Arg Leu			
945	950	955	
Pro Asp Lys Tyr Arg Gly His Arg Leu Phe Gly Ala Gly Lys Glu Gln			
960	965	970	975
Ala Glu Ser Trp Trp Lys Thr Leu Ser His His Leu Ile Ala Glu Gly			
980	985	990	
Phe Leu Val Glu Val Pro Lys Glu Asn Lys Tyr Ile Lys Thr Cys Ser			
995	1000	1005	
Leu Thr Lys Lys Gly Arg Lys Trp Leu Gly Glu Ala Ser Leu Gln Ser			
1010	1015	1020	
Pro Pro Ser Leu Leu Leu Gln Ala Asn Glu Glu Met Phe Pro Arg Lys			
1025	1030	1035	
Val Leu Leu Pro Ser Ser Asn Pro Val Ser Pro Glu Thr Thr Gln His			
1040	1045	1050	1055
Ser Ser Asn Gln Asn Pro Ala Gly Leu Thr Thr Lys Gln Ser Asn Leu			
1060	1065	1070	
Glu Arg Thr His Ser Tyr Lys Val Pro Glu Lys Val Ser Ser Gly Ser			
1075	1080	1085	
Asn Ile Pro Lys Lys Ser Ala Val Met Pro Ser Pro Gly Thr Ser Ser			
1090	1095	1100	
Ser Pro Leu Glu Pro Ala Ile Ser Ala Gln Glu Leu Asp Ala Arg Thr			
1105	1110	1115	
Gly Leu Tyr Ala Arg Leu Val Glu Ala Arg Gln Lys His Ala Asn Lys			
1120	1125	1130	1135
Met Asp Val Pro Pro Ala Ile Leu Ala Ala Asn Lys Val Leu Leu Asp			
1140	1145	1150	
Met Ala Lys Met Arg Pro Thr Thr Val Glu Asn Met Lys Gln Ile Asp			
1155	1160	1165	
Gly Val Ser Glu Gly Lys Ala Ala Leu Leu Ala Pro Leu Val Gly Val			
1170	1175	1180	
Ile Lys His Phe Cys Gln Val Thr Ser Val Gln Thr Asp Leu Leu Ser			
1185	1190	1195	
Ser Ala Lys Pro His Lys Glu Gln Glu Lys Ser Gln Glu Met Glu Lys			
1200	1205	1210	1215
Lys Asp Cys Ser Leu Pro Gln Ser Val Ala Val Thr Tyr Thr Leu Phe			

41

42

1220 1225 1230
 Gln Glu Lys Lys Met Pro Leu His Ser Ile Ala Glu Asn Arg Leu Leu
 1235 1240 1245
 Pro Leu Thr Ala Val Gly Met His Leu Ala Gln Ala Val Lys Ala Gly
 1250 1255 1260
 Cys Pro Leu Asp Met Glu Arg Ala Gly Leu Thr Pro Glu Thr Trp Lys
 1265 1270 1275
 Ile Ile Met Asp Val Ile Arg Asn Pro Pro Ile Asn Ser Asp Met Tyr
 1280 1285 1290 1295
 Lys Val Lys Leu Ile Arg Met Leu Val Pro Glu Asn Ile Asp Thr Tyr
 1300 1305 1310
 Leu Ile His Met Ala Ile Glu Ile Leu Gln Ser Gly Ser Asp Ser Arg
 1315 1320 1325
 Thr Gln Pro Pro Cys Asp Ser Ser Arg Lys Arg Arg Phe Pro Ser Ser
 1330 1335 1340
 Ala Glu Ser Cys Glu Ser Cys Lys Glu Ser Lys Glu Val Val Thr Glu
 1345 1350 1355
 Thr Lys Ala Ser Ser Ser Glu Ser Lys Arg Lys Leu Pro Glu Trp Phe
 1360 1365 1370 1375
 Ala Lys Gly Asn Val Pro Ser Ala Asp Thr Gly Ser Ser Ser Ser Met
 1380 1385 1390
 Ala Lys Thr Lys Lys Lys Gly Leu Phe Ser
 1395 1400

【0138】配列番号：3

配列の長さ：4206

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

* 配列の種類：cDNA to mRNA

起源

生物名：マウス

配列の特徴

* 他の情報：mouse WRN helicase

配列：

ATGGAACCA CTTCCTACA GCGGAAATTT CCAGAATGGA TGTCTATGCA GAGTCAAAGA 60
 TGTGCTACAG AAGAAAAGGC CTGCGTTCAG AAGAGTGTTT TGAAGATAA TCTCCCATTC 120
 TTAGAATTCC CTGGATCCAT TGTTTACAGT TATGAAGCTA GTGATTGCTC CTTCCTGTCT 180
 GAAGACATTA GCATGCGTCT GTCTGATGGC GATGTGGTGG GATTTGACAT GGAATGGCCG 240
 CCCATATACA AGCCAGGGAA ACGAAGCAGA GTCGCAGTGA TCCAGTTGTG TGTGTCTGAG 300
 AACAAATGTT ACTTGTTTCA CATTCTCTCC ATGTCAGTTT TCCCCAGGG ATTAATAAATG 360
 TTACTAGAAA ACAAATCAAT TAAGAAGGCA GGGGTTGGGA TTGAAGGGGA CCAGTGGAAG 420
 CTTCTGCGTG ATTTTGACGT CAAGTTGGAG AGTTTGTGG AGCTGACGGA TGTGCTCAAT 480
 GAAAAGTTGA AGTGCGCAGA GACCTGGAGC CTCAATGGTC TGGTTAAACA CGTCTTAGGG 540
 AAACAACCTT TGAAAGACAA GTCCATCCGC TGCAGCAATT GGAGTAATTT CCCCCTCACT 600
 GAGGACCAGA AACTGTATGC AGCCACTGAT GCCTATGCTG GTCTTATCAT CTATCAAAAA 660
 TTAGGAAATT TGGGTGATAC TGTGCAAGTG TTTGCTCTAA ATAAAGCAGA GGAAACCTA 720
 CCTCTGGAGA TGAAGAAACA GTTGAATTTA ATCTCCGAAG AAATGAGGGA TCTAGCCAAT 780
 CGTTTTCCAG TCACTTGCAG AAATTTGGAA ACTCTCCAGA GGGTTCCTGT AATATTGAAG 840
 AGTATTTTCA AAAATCTCTG TTCATTGAGA AAAGTGATCT GTGGTCCTAC AAACACTGAG 900
 ACTAGACTGA AGCCGGGCAG TAGTTTAAAT TTAGTGTGAT CAGAAGATTC AGCTGCTGCT 960
 GGAGAAAAAG AGAAACAGAT TGGAAAACAT AGTACTTTTG CTAATAATTA AGAAGAACCA 1020
 TGGGACCCAG AACTTGACAG TTAGTGAAG CAAGAGGAGG TTGATGTATT TAGAAATCAA 1080
 GTGAAGCAAG AAAAAGGTGA ATCTGAAAAT GAAATAGAAG ATAATCTGTT GAGAGAAGAT 1140
 ATGGAAGAA CTTGTGTGAT TCCTAGTATT TCAGAAAATG AACTCCAAGA TTTGGAACAG 1200
 CAAGCTAAAG AAGAAAAATA TAATGATGTT TCTACCAAC TTTCTGAGCA TTTATCTCCC 1260

AATGATGATG AGAATGACTC CTCCTATATA ATTGAAAGTG ATGAAGATTG GGAATGGAG 1320
 ATGCTGAAGT CTTTAGAAAA CCTAAATAGT GACATGGTGG AACCCACTCA CTCTAAATGG 1380
 TTGGAAATGG GAACCAATGG GTGTCTTCCT CCTGAGGAGG AAGATGGACA CGGAAATGAA 1440
 GCCATCAAAG AGGAGCAGGA AGAAGAGGAC CATTTATTGC CGGAACCCAA CGCAAAGCAA 1500
 ATTAATTGCC TCAAGACCTA TTTCGGACAC AGCAGTTTGA AACCGGTTCA GTGGAAGATC 1560
 ATCCATTCTG TATTAGAAGA GAGAAGAGAT AATGTTGTTG TCATGGCAAC TGGATATGGG 1620
 AAGAGTCTGT GCTTCCAGTA TCCGCCTGTT TATACAGGCA AGATTGGCAT TGTCAATTCA 1680
 CCTCTCATTT CCTTAATGGA AGACCAAGTC CTCCAGCTTG AGCTATCCAA TGTTCAGGCC 1740
 TGTTTACTTG GATCTGCACA ATCAAAAAAT ATTCTAGGAG ATGTTAAATT AGGCAAATAT 1800
 AGGGTCATCT ACATAACTCC AGAGTTCTGT TCTGGTAACT TGGATCTACT CCAGAACTT 1860
 GACTCTAGTA TTGGCATCAC TCTCATTGCT GTGGATGAGG CTCACTGCAT TTCAGAGTGG 1920
 GGCCATGATT TCAGAAGTTC ATTCAGGATG CTGGGCTCTC TTAACACAGC GCTCCCATTG 1980
 GTTCAGTCA TTGCACTCTC CGCTACTGCA AGCTCTTCCA TCCGGGAAGA CATTATAAGC 2040
 TGCTTAAACC TGAAAGACCC TCAGATCACC TGCCTGGAT TTGATCGGCC AAATCTGTAC 2100
 TTAGAAGTTG GACGGAAGAC AGGGAACATC CTTCAGGATC TAAAGCCGTT TCTCGTCCGA 2160
 AAGGCAAGTT CTGCCTGGGA ATTTGAAGGT CCAACCATCA TCTATTGTCC TCGAGAAAA 2220
 ATGACAGAAC AAGTTACTGC TGAAGTTGGG AAAGTGAAGT TAGCCTGCAG AACATACCAC 2280
 GCTGGCATGA AAATTAGCGA AAGGAAGGAC GTTCATCATA GGTTCCTGAG AGATGAAATT 2340
 CAGTGTGTTG TAGCTACTGT AGCTTTTGA ATGGGCATTA ATAAAGCTGA CATTGCGCAA 2400
 GTTATTCATT ATGGTGCGCC TAAGGAAATG GAATCCTATT ACCAGGAAAT TGGTAGAGCT 2460
 GGCCGGGATG GACTTCAGAG TTCTGTAC TGTCTCTGG CTCCAGCAGA CTTTAACACA 2520
 TCCAGGAATC TCCTTATTGA GATTCACGAT GAAAAGTTCC GGTATATAA ATTAAGATG 2580
 ATGGTAAAGA TGAAAAATA CCTTCACTCC AGTCAGTGTA GGCAGCAAT CATCTGTGCC 2640
 CATTTTGAGG ACAAATGTCT GCAGAAGGCC TCCTTGGACA TTATGGGAAC TGAATAATGC 2700
 TGTGATAATT GCAGGCCAG GCTGAATCAT TGCCTTACTG CTAACAATC AGAGGACGCA 2760
 TCCCAAGACT TTGGGCCACA AGCATTCCAG CTAAGTCTG CTGTGGACAT CTGCAGGAG 2820
 AAATTTGGA TTGGGATTCC GATCTTATTT CTCCGAGGAT CTAATTCTCA GCGTCTTCT 2880
 GATAAATATC GGGGTCACAG GCTCTTTGGT GCTGGAAAG AGCAAGCAGA AAGTTGGTGG 2940
 AAGACTCTTT CTCACCATCT CATAGCTGAA GGATTCTTGG TAGAGGTTCC CAAGGAAAAC 3000
 AAATATATA AGACATGTT CCTCACAAA AAGGGTAGAA AGTGGCTTGG AGAAGCCAGT 3060
 TTGAGTCTC CTCCGAGCCT TCTCCTTCAA GCTAATGAAG AGATGTTTCC AAGGAAAGTT 3120
 CTGCTACCAA GTTCTAATCC TGTATCTCCA GAAACGACGC AACATTCTC TAATCAAAAC 3180
 CCAGCTGGAT TAACTACCAA GCAGTCTAAT TTGGAGAGGA CGCATTCTTA CAAAGTGCC 3240
 GAGAAAGTTT CTTCTGGGAG TAACATTCTT AAAAAAGTG CCGTGTATGCC GTCACCAGGA 3300
 ACATCTTCCA GCCCCTTAGA ACCTGCCATC TCAGCCCAAG AGCTGGACGC TCGGACTGGG 3360
 CTATATGCCA GGTGGGTGGA AGCAAGGAG AAACACGCTA ATAAGATGGA TGTACCTCCA 3420
 GCTATTTTAG CAGCAACAA GGTTTTGCTG GACATGGCTA AAATGAGACC GACTACTGTT 3480
 GAAAACATGA AACAGATCGA CGGTGTCTCT GAAGGCAAAG CTGCTCTGTT GGCCCTCTG 3540
 GTGGGAGTCA TCAAACATTT CTGTCAAGTA ACTAGTGTT AGACAGACCT CCTTCCAGT 3600
 GCCAAACCTC ACAAGGAACA GGAGAAAAGT CAGGAGATGG AAAAGAAAGA CTGCTCACTC 3660
 CCCAGTCTG TGGCCGTCAC ATACACTTTA TTCCAGGAAA AGAAAATGCC CTTACACAGC 3720
 ATAGCTGAGA ACAGGCTCCT GCCTCTCACA GCAGTCGGCA TGCATTAGC CCAGGCGGTG 3780
 AAAGCCGGCT GCCCCTGGA TATGGAGCGA GCTGGCCTGA CCCAGAGAC TTGGAAGATT 3840
 ATTATGGATG TCATCCGAAA CCCTCCCATC AACTCAGATA TGTATAAAGT TAACTCATC 3900
 AGAATGTTAG TTCCTGAAAA CATCGACAG TACCTCATCC ACATGGCGAT TGAGATTCTT 3960
 CAGAGTGGTT CCGACAGCAG AACCCAGCCT CTTGTGATT CCAGCAGGAA GAGGCGTTTC 4020
 CCCAGTCTG CAGAGAGTTG TGAGAGCTGT AAGGAGAGCA AAGAGGTGGT CACCGAGACC 4080
 AAGGCATCAT CTTCAGAGTC AAAGAGAAAA TTACCTGAGT GGTGTGCCAA AGGAAATGTG 4140
 CCCTCAGCTG ATACCGGCAG CTCATCATCA ATGGCCAAGA CAAAAAGAA AGGTCTCTTT 4200
 AGTTAA



45

【0139】配列番号：4

配列の長さ：24

配列の型：核酸

配列：

CGCCAGGGTT TTCCAGTCA CGAC

【0140】配列番号：5

配列の長さ：22

配列の型：核酸

配列：

TCACACAGGA AACAGCTATG AC

【0141】配列番号：6

配列の長さ：19

配列の型：核酸

配列：

GATTAGGTG ACACTATAG

【0142】配列番号：7

配列の長さ：20

配列の型：核酸

配列：

TAATACGACT CACTATAGGG

【0143】配列番号：8

配列の長さ：22

配列の型：核酸

配列：

ACCGCTTGGG ATAAGTGCAT GC

【0144】配列番号：9

配列の長さ：24

配列の型：核酸

配列：

GCATTAATAA AGCTGACATT CGCC

【0145】配列番号：10

配列の長さ：27

配列の型：核酸

配列：

GCTGGAATGC TTGTGGCCCA AAGTCTT

【0146】配列番号：11

配列の長さ：28

配列の型：核酸

配列：

TGAAGTCCAT TCCCGGCCAG CTCTACCG

【0147】配列番号：12

配列の長さ：30

配列の型：核酸

配列：

TCTCCAGCAG CAGCTGATCT TCTGATGACA

【0148】配列番号：13

配列の長さ：27

配列の型：核酸

配列：

TGGACGCTCG GACTGGGCTA TATGCCA

(24)



46

特開平10-146188

* 鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

* 配列の種類：他の核酸（合成DNA）

24

※ 鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

※ 配列の種類：他の核酸（合成DNA）

22

★ 鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

★ 配列の種類：他の核酸（合成DNA）

19

☆ 鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

☆ 配列の種類：他の核酸（合成DNA）

20

◆ 鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

◆ 配列の種類：他の核酸（合成DNA）

22

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成DNA）

24

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成DNA）

27

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成DNA）

28

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成DNA）

30

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成DNA）

50

27

47

48

【0149】配列番号：14

配列の長さ：26

配列の型：核酸

配列：

AGCTGCTCTG TTGGCCCTC TGGTGG

【0150】配列番号：15

配列の長さ：27

配列の型：核酸

配列：

CCATCCTAAT ACGACTCACT ATAGGGC

【0151】配列番号：16

配列の長さ：23

配列の型：核酸

配列：

ACTCACTATA GGGCTCGAGC GGC

【0152】配列番号：17

配列の長さ：1404

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列：

GCATTAATAA AGCTGACATT CGCCAAGTTA TTCATTATGG TGCGCCTAAG GAAATGGAAT 60
 CCTATTACCA GGAAATTGGT AGAGCTGGCC GGGATGGACT TCAGAGTTCC TGTCATTGC 120
 TCTGGGCTCC AGCAGACTTT AACACATCCA GGAATCTCCT TATTGAGATT CACGATGAAA 180
 AGTTCCGGTT ATATAAATTA AAGATGATGG TAAAGATGGA AAAATACCTT CACTCCAGTC 240
 AGTGTAGGCG ACGAATCATC TTGTCCCATTT TGAGGACAA ATGTCTGCAG AAGGCCCTCCT 300
 TGGACATTAT GGGAAGTGAA AAATGCTGTG ATAATTGCAG GCCCAGGCTG AATCATTGCC 360
 TTAAGTCTAA CAACTCAGAG GACGCATCCC AAGACTTTGG GCCACAAGCA TTCCAGCTAC 420
 TGTCTGCTGT GGACATCCTG CAGGAGAAAT TTGGAATTGG GATTCCGATC TTATTCTCC 480
 GAGGATCTAA TTCTCAGCGT CTTCCTGATA AATATCGGGG TCACAGGCTC TTTGGTGCTG 540
 GAAAGGAGCA AGCAGAAAGT TGGTGAAGA CTCTTTCTCA CCATCTCATA GCTGAAGGAT 600
 TCTTGGTAGA GGTTCCTAAG GAAAACAAAT ATATAAAGAC ATGTTCCCTC AAAAAAAGG 660
 GTAGAAAGTG GCTTGGAGAA GCCAGTTTGC AGTCTCCTCC GAGCCTTCTC CTTCAAGCTA 720
 ATGAAGAGAT GTTTCCAAGG AAAGTTCTGC TACCAAGTTC TAATCCTGTA TCTCCAGAAA 780
 CGACGCAACA TTCCTCTAAT CAAAACCCAG CTGGATTAAC TACCAAGCAG TCTAATTGG 840
 AGAGGACGCA TTCTTACAAA GTGCCTGAGA AAGTTTCTTC TGGGAGTAAC ATTCCTAAAA 900
 AAAGTGCCGT GATGCCGTCA CCAGGAACAT CTTCCAGCCC CTAGAACCT GCCATCTCAG 960
 CCCAAGAGCT GGACGCTCGG ACTGGGCTAT ATGCCAGGTT GGTGGAAGCA AGGCAGAAAC 1020
 ACGCTAATAA GATGGATGTA CCTCCAGCTA TTTTAGCAGC AAACAAGGTT TTGCTGGACA 1080
 TGGCTAAAAT GAGACCGACT ACTGTTGAAA ACATGAAACA GATCGACGGT GTCTCTGAAG 1140
 GCAAAGCTGC TCTGTGGCC CCTCTGGTGG GAGTCATCAA ACATTTCTGT CAAGTAACTA 1200
 GTGTTTCAGAC AGACCTCCTT TCCAGTGCCA AACCTCACA GGAACAGGAG AAAAGTCAGG 1260
 AGATGAAAAA GAAAGACTGC TCACTCCCCC AGTCTGTGGC CGTCACATAC ACTTTATTCC 1320
 AGGAAAAGAA AATGCCCTTA CACAGCATAG CTGAGAACAG GCTCCTGCCT CTCACAGCAG 1380
 TCGGCATGCA CTTATCCCAA GCGG 1404

【0153】配列番号：18

配列の長さ：1781

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

* 鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

* 配列の種類：他の核酸（合成DNA）

26

※ 鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

※ 配列の種類：他の核酸（合成DNA）

27

★ 鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

★ 配列の種類：他の核酸（合成DNA）

23

☆ 配列の種類：cDNA to mRNA

起源

生物名：マウス

配列の特徴

☆20 他の情報：mouse WRN helicase

配列の種類：cDNA to mRNA

起源

生物名：マウス

配列の特徴

50 他の情報：mouse WRN helicase

配列：

TCTAAATAAA GCAGAGGAAA ACCTACCTCT GGAGATGAAG AAACAGTTGA ATTTAATCTC 60
 CGAAGAAATG AGGGATCTAG CCAATCGTTT TCCAGTCACT TGCAGAAATT TGGAAACTCT 120
 CCAGAGGGTT CCTGTAATAT TGAAGAGTAT TTCAGAAAAT CTCTGTTTCT TGAGAAAAGT 180
 GATCTGTGGT CCTACAAACA CTGAGACTAG ACTGAAGCCG GGCAGTAGTT TTAATTTACT 240
 GTCATCAGAA GATTGAGCTG CTGCTGGAGA AAAAGAGAAA CAGATTGGAA AACATAGTAC 300
 TTTTGCTAAA ATTAAAGAAG AACCATGGGA CCCAGAACTT GACAGTTTAG TGAAGCAAGA 360
 GGAGGTTGAT GTATTTAGAA ATCAAGTGAA GCAAGAAAAA GGTGAATCTG AAAATGAAAT 420
 AGAAGATAAT CTGTTGAGAG AAGATATGGA AAGAACTTGT GTGATTCCTA GTATTTTCTA 480
 AAATGAAGTC CAAGATTGG AACAGCAAGC TAAAGAAGAA AAATATAATG ATGTTTCTCA 540
 CCAACTTTCT GAGCATTAT CTCCAATGA TGATGAGAAT GACTCCTCCT ATATAATTGA 600
 AAGTGATGAA GATTGGAAG TGGAGATGCT GAAGTCTTTA GAAAACCTAA ATAGTGACAT 660
 GGTGGAACCC ACTCACTCTA AATGGTTGGA AATGGGAACC AATGGGTGTC TTCCTCCTGA 720
 GGAGGAAGAT GGACACGAA ATGAAGCCAT CAAAGAGGAG CAGGAAGAAG AGGACCATT 780
 ATTGCCGGA CCCAACGCAA AGCAAATTAA TTGCCTCAAG ACCTATTTCTG GACACAGCAG 840
 TTTTAAACCG GTTCAGTGAAG AAGTCATCCA TTCTGTATTA GAAGAGAGAA GAGATAATGT 900
 TGTTGTCATG GCAACTGGAT ATGGGAAGAG TCTGTGCTTC CAGTATCCGC CTGTTTATAC 960
 AGGCAAGATT GGCATTGTCA TTTCACCTCT CATTTCCTTA ATGGAAGACC AAGTCCTCCA 1020
 GCTTGAGCTA TCCAATGTT CAGCCTGTTT ACTTGATCT GCACAATCAA AAAATATTCT 1080
 AGGAGATGTT AAATTAGGCA AATATAGGGT CATCTACATA ACTCCAGAGT TCTGTTCTGG 1140
 TAACTTGGAT CTAATCCAGA AACTTGACTC TAGTATTGGC ATCACTCTCA TTGCTGTGGA 1200
 TGAGGCTCAC TGCAATTCAG AGTGGGGCCA TGATTTTCTA AGTTCATTCA GGATGCTGGG 1260
 CTCTCTTAAA ACAGCGCTCC CATTGGTTCC AGTCATTGCA CTCTCCGCTA CTGCAAGCTC 1320
 TTCCATCCGG GAAGACATTA TAAGCTGCTT AAACCTGAAA GACCCTCAGA TCACCTGCAC 1380
 TGGATTGAT CGGCCAAATC TGTACTTAGA AGTTGGACGG AAAACAGGGA ACATCCTTCA 1440
 GGATCTAAAG CCGTTTCTCG TCCGAAAGGC AAGTTCTGCC TGGGAATTG AAGGTCCAAC 1500
 CATCATCTAT TGTCTTCGA GAAAAATGAC AGAACAAGTT ACTGCTGAAC TTGGGAAACT 1560
 GAAGTTAGCC TGCAGAACAT ACCACGCTGG CATGAAAATT AGCGAAAGGA AGGACGTTCA 1620
 TCATAGGTTT CTGAGAGATG AAATTCAGTG TGTTGTAGCT ACTGTAGCTT TTGGAATGGG 1680
 CATTAATAAA GCTGACATTC GCCAAGTTAT TCATTATGGT GCGCCTAAGG AAATGGAATC 1740
 CTATTACCAG GAAATTGGTA GAGCTGGCCG GGATGGACTT C 1781

【0154】配列番号：19

配列の長さ：1164

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

* 配列の種類：cDNA to mRNA

起源

生物名：マウス

配列の特徴

* 他の情報：mouse WRN helicase

配列：

GGCAGGCGCC AGACCAGAAG TGCACCGAGG CGCCCGTTGG TATAAAGTTA GTAAATGTGA 60
 GGCCTGTCTC GATGCCTGGG TCCTGGGCTT TGGTTCTCAG TCCTCCATAA ATCATCCTGC 120
 TGGAGGAGAA GACCCTTAGA TCTGGCTCTT CTCAGGGGCA TTTTAAAGAC AAATGAAAAAT 180
 AAAATGAAAA CCACTTCACT ACAGCGGAAA TTTCCAGAAT GGATGTCTAT GCAGAGTCAA 240
 AGATGTGCTA CAGAAGAAAA GGCTGCGTT CAGAAGAGTG TTCTTGAAGA TAATCTCCCA 300
 TTCTTAGAAT TCCCTGGATC CATTGTTTAC AGTTATGAAG CTAGTGATTG CTCCTTCCTG 360
 TCTGAAGACA TTAGCATGCG TCTGTCTGAT GCGATGTGG TGGGATTGTA CATGGAATGG 420
 CCGCCCATAT ACAAGCCAGG GAAACGAAGC AGAGTCGCAG TGATCCAGTT GTGTGTGTCT 480
 GAGAACAAT GTTACTTGTT TCACATTCTT TCCATGTGAG TTTTCCCCCA GGGATTAAAA 540
 ATGTTACTAG AAAACAAATC AATTAAGAAG GCAGGGGTTG GGATTGAAGG GGACCACTGG 600
 AAAGTTCTGC GTGATTTTGA CGTCAAGTTG GAGAGTTTGG TGGAGCTGAC GGATGTTGCC 660
 AATGAAAAGT TGAAGTGCAG AGAGACCTGG AGCCTCAATG GTCTGGTTAA ACACGTCTTA 720
 GGGAAACAAC TTTTGAAAGA CAAGTCCATC GAGTGCAGCA ATTGGAGTAA TTTCCCCTC 780

51

52

ACTGAGGACC AGAAACTGTA TGCAGCCACT GATGCCTATG CTGGTCTTAT CATCTATCAA 840
 AAATTAGGAA ATTTGGGTGA TACTGTGCAA GTGTTTGCTC TAAATAAAGC AGAGGAAAAC 900
 CTACCTCTGG AGATGAAGAA ACAGTTGAAT TTAATCTCCG AAGAAATGAG GGATCTAGCC 960
 AATCGTTTTC CAGTCACTTG CAGAAATTG GAAACTCTCC AGAGGGTTCC TGTAAATATTG 1020
 AAGAGTATTT CAGAAAATCT CTGTTCAATTG AGAAAAGTGA TCTGTGGTCC TACAAACACT 1080
 GAGACTAGAC TGAAGCCGGG CAGTAGTTTT AATTTACTGT CATCAGAAGA TTCAGCTGCT 1140
 GCTGGAGAAA AAGAGAAACA GATT 1164

【0155】配列番号：20

配列の長さ：1276

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

* 配列の種類：cDNA to mRNA

起源

10 生物名：マウス

配列の特徴

* 他の情報：mouse WRN helicase

配列：

GCTGCTCTGT TGGCCCCTCT GGTGGGAGTC ATCAAACATT TCTGTCAAGT AACTAGTGTT 60
 CAGACAGACC TCCTTTCCAG TGCCAAACCT CACAAGGAAC AGGAGAAAAG TCAGGAGATG 120
 GAAAAGAAAG ACTGCTCACT CCCCAGTCT GTGGCCGTCA CATACACTTT ATTCCAGGAA 180
 AAGAAAATGC CCTTACACAG CATAGCTGAG AACAGGCTCC TGCCTCTCAC AGCAGTCGGC 240
 ATGCACTTAG CCCAGGCGGT GAAAGCCGGC TGCCCCCTGG ATATGGAGCG AGCTGGCCTG 300
 ACCCCAGAGA CTGGAAGAT TATTATGGAT GTCATCCGAA ACCCTCCCAT CAACTCAGAT 360
 ATGTATAAAG TTAACATCAT CAGAATGTTA GTTCTGAAA ACATCGACAC GTACCTCATC 420
 CACATGGCGA TTGAGATTCT TCAGAGTGGT TCCGACAGCA GAACCCAGCC TCCTTGTGAT 480
 TCCAGCAGGA AGAGGCGTTT CCCAGCTCT GCAGAGAGTT GTGAGAGCTG TAAGGAGAGC 540
 AAAGAGGTGG TCACCGAGAC CAAGGCATCA TCTTCAGAGT CAAAGAGAAA ATTACCTGAG 600
 TGGTTTGCCA AAGGAAATGT GCCCTCAGCT GATACCGGCA GCTCATCATC AATGGCCAAG 660
 ACCAAAAAGA AAGGTCTCTT TAGTTAAGAT GACAACGATG GAACAGTTTG TGTGCTCTAC 720
 ATCTTCATTC CTATAAAGAA TGAAAAGAAA TATTTTAACC TCAAAATTAT TTAAGTCCA 780
 AAGTGAAGCT CACCTAAACG TCGAGCCATA GAGTCTTTAA TTGCCCGTTG GCAGTTGAGC 840
 TACAGTATCT GAACCTTCTG AGACCCGGAG TGCAGCATAG ACTGTGAAGT CGGCTTCCTT 900
 TCCGATTGCC TTCCGAACCG GTGCCACTGT CAGGTTGCAG TTTTCTTTT TTTGCAGCAG 960
 TGTGTGTTGG AAATGGAGGC TGTGTCGCTT TGACATATAG AACAGATCAA TAGTTGCATA 1020
 GGGACAGATA TGAAGATACA GCCGGTCTTT GCTTTCTTAT GCAGATGCCT GTATGACAGT 1080
 ATCAGTGCAC CAGCCCAGCC AGGGAGAATC AGCTTCCATT TAAAAAGGGA AAGCGGACAA 1140
 GGAATCCAGT TACAGAAACA ACTAAATTTT ATGCATTTTC TGCAGTTTTT ATTATTTCTC 1200
 AATCAAAAGT GTTTTTTGTA CTGAATAGTA AATATACTAA ATTTTCATTT TTTAAAAAAA 1260
 AAAAAAAAAA AAAAAA

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明のマウスWRN遺伝子のクローニング手法の概要を示す図である。

【図2】マウスWRN 遺伝子がコードするタンパク質を示す模式図である。

【図3】マウスWRN 遺伝子を含むBAC DNA を用いた FIS※

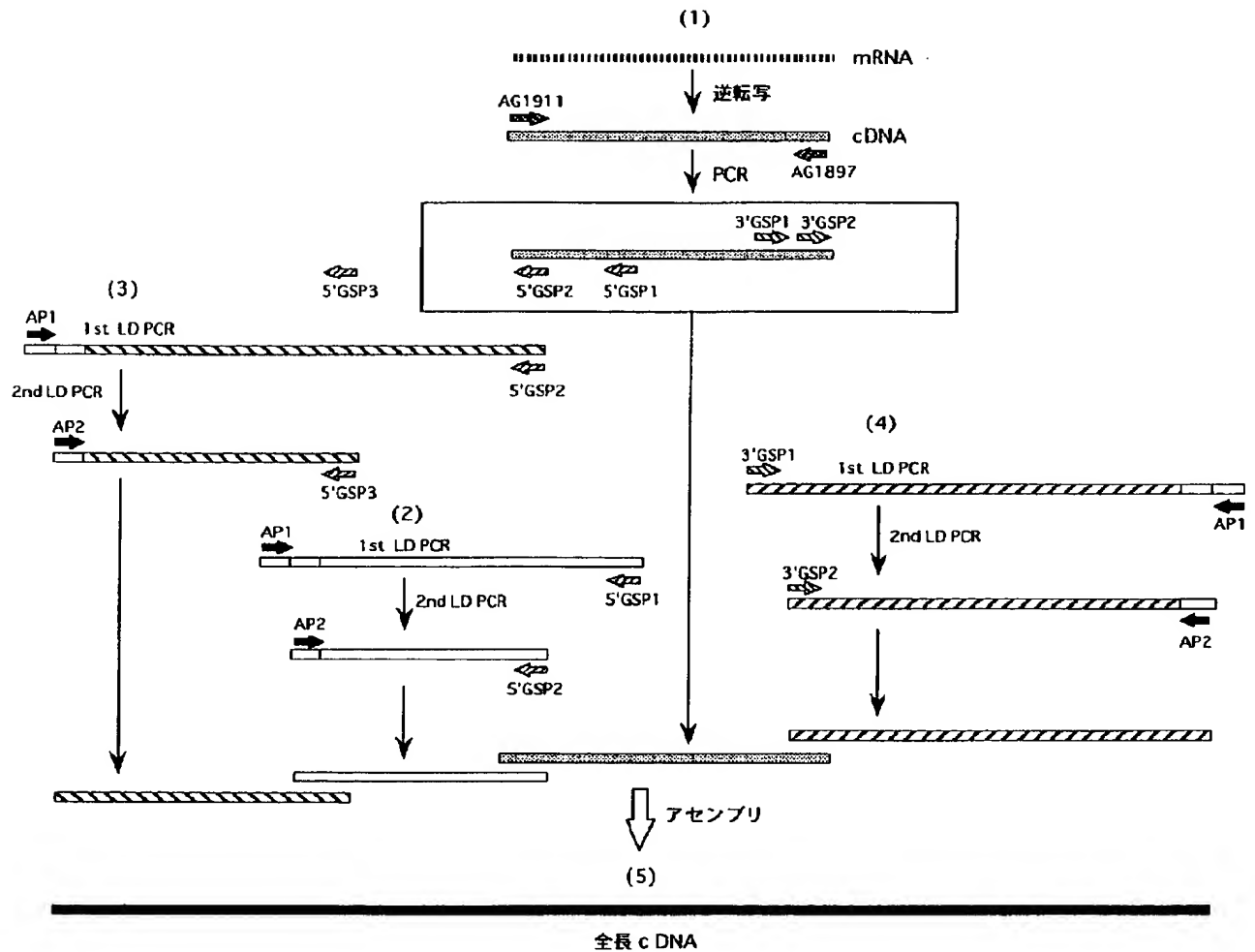
※H による解析結果を示す写真である（生物の形態）。

【図4】マウスWRN 遺伝子のサザンプロットによる解析結果を示す電気泳動の写真である。

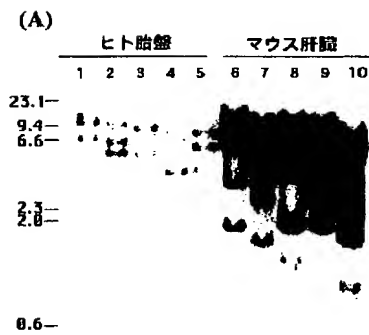
【図5】マウスWRN 遺伝子のノーザンプロットによる解析結果を示す電気泳動の写真である。

40

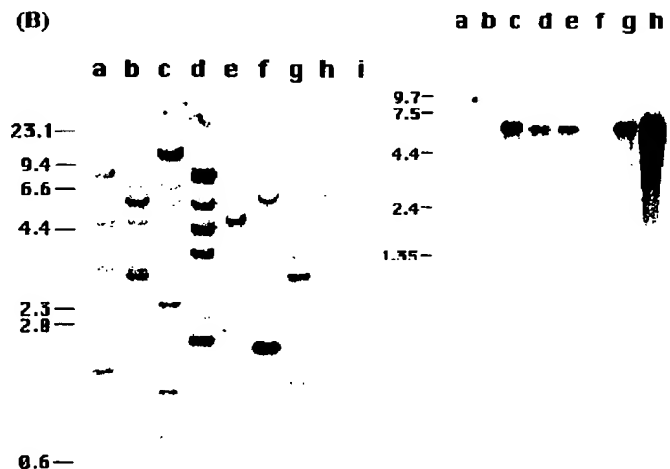
【図1】



【図4】



【図5】

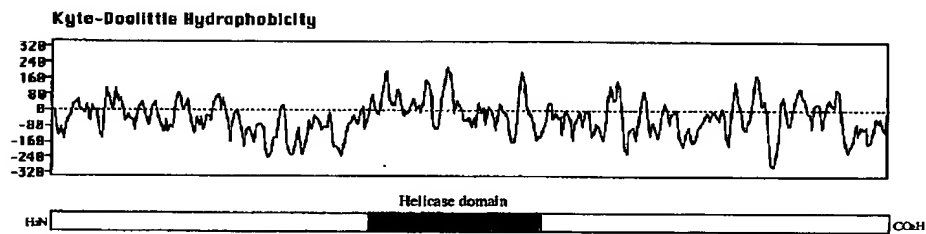


【図2】

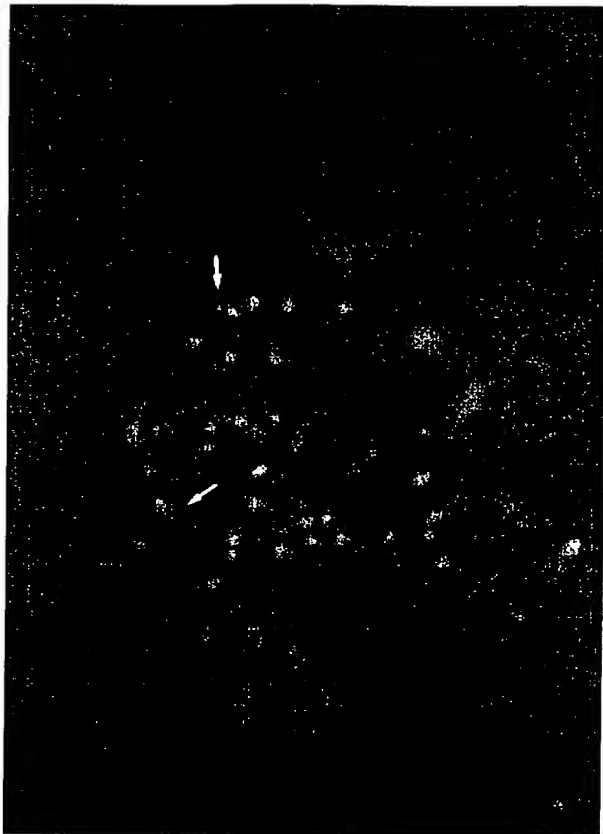
(A)

	aa #	I	Ia	II	III			
WRN/mouse	533	VVMATGYGKSLCFQ	557	IVISPLISLMEDQVLQL	628	LIIVDEAHCTIS	664	IATLATASSSIR
WRN/human	646	AVMATGYGKSLCFQ	671	LVISPLISLMEDQVLQL	741	LIIVDEAHCTIS	777	VALTATASSSIR
RecQ1/human	111	LVMPITGGGKSLCYQ	135	LVICPLISLMEDQVLQL	215	RIIVDEAHCTIS	251	IGLTATATNHVL
RecQ/E.coli	45	VVMPTGGGKSLCYQ	69	VVVSPLISLMKDDVDQL	142	LIIVDEAHCTIS	178	MALTATADDTTR
		II II II II II II	II II II II II II II II	II II II II II II II II	II II II II II II II II			
		IV	V	VI	Accession #			
WRN/mouse	730	GPTIIVCPSRKMTQOV	784	IATIAFGMGINKADIRQVI	812	SYVQETGRAGR	D86526-7	
WRN/human	842	GPTIIVCPSRKMTQOV	896	IATIAFGMGINKADIRQVI	924	SYVQETGRAGR	L76937	
RecQ1/human	315	QSGIIVCFQKDSQOV	368	VATVAFGMGINKPVRVFI	397	NYVQETGRAGR	D37984	
RecQ/E.coli	237	KSGIIVCNSRAKVEDT	291	VATVAFGMGINKPVRVFI	319	SYVQETGRAGR	P15043	
		II II II II II II II II	II II II II II II II II	II II II II II II II II				

(B)



【図3】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁶

識別記号

F I

C 1 2 P 21/02

C 1 2 P 21/08

21/08

C 1 2 Q 1/68

C 1 2 Q 1/68

C 1 2 N 5/00

B